



Rafael Ferreira Simões

Licenciatura em Ciências de Engenharia Biomédica

**Aplicação de Métodos Quantitativos de
Ressonância Magnética na Avaliação da Carga
Lesional e do Volume Cerebral na Esclerose
Múltipla**

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Biomédica

Orientadoras: Doutora Rita G. Nunes, Investigadora Auxiliar,
Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
Dra. Joana Mendes da Graça,
Médica Neurorradiologista, Assistente Hospitalar Gra-
duada, Centro Hospitalar Lisboa Ocidental, EPE - Hos-
pital Egas Moniz

Júri

Presidente: Prof. Doutora Carla Maria Quintão Pereira
Arguente: Doutora Sónia Isabel Domingos Marreiros Gonçalves
Vogal: Doutora Rita Homem de Gouveia Constanzo Nunes



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Novembro, 2016

Aplicação de Métodos Quantitativos de Ressonância Magnética na Avaliação da Carga Lesional e do Volume Cerebral na Esclerose Múltipla

Copyright © Rafael Ferreira Simões, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Este documento foi gerado utilizando o processador (pdf) \LaTeX , com base no template “unlthesis” [1] desenvolvido no Dep. Informática da FCT-NOVA [2]. [1] <https://github.com/joaomlourengo/unlthesis> [2] <http://www.di.fct.unl.pt>

Aos meus pais e minha irmã

AGRADECIMENTOS

Teria sido impossível cumprir esta etapa sozinho.

Devo um primeiro agradecimento às minhas orientadoras, as doutoras Rita Nunes e Joana Graça, por desde sempre demonstrarem uma grande disponibilidade e interesse no trabalho. A sua constante preocupação e apoio foram fulcrais para o desenrolar positivo desta dissertação. Um sincero obrigado por tudo.

Um outro agradecimento à doutora Filipa Ladeira, pelo tão importante contributo no estudo de correlação clínica, e ao doutor Veloso, por ter tornado possível a utilização do MSMetrix na validação da ferramenta desenvolvida.

Agradeço também à FCT, por me ter proporcionado ao longo destes 5 anos memórias que certamente não mais esquecerei, tendo assim contribuído para a minha formação profissional mas também para o meu crescimento enquanto pessoa.

Nos últimos meses o IBEB foi a minha segunda casa. Pelo seu acolhimento durante dias (e também noites!) a fio, o ambiente descontraído e a oportunidade de dissertação deixo também aqui o meu agradecimento.

Tenho a agradecer aos meus amigos (que também são colegas de faculdade), especialmente àqueles que desde o início me acompanharam: a Vera, o Borbinha, o Calisto, o Pedro, a Bárbara e as Jéssicas, a Ana e as Danielas, entre outros tantos com quem partilhei felizes vivências. Agradecer também aos meus padrinhos, Chico e Carolina, e aos meus afilhados, Guilherme e Ana Leonor. Há ainda que louvar o espírito de companheirismo vivido nos últimos meses com os colegas do IBEB, que tanto me ajudaram e tanto me valeram nos momentos de mais aperto. Alguns já foram mencionados, e outros nem por isso: o Miguel, o Cosme, a Patrícia, a Carolina, a Raquel, entre outros!

Quero também agradecer aos meus amigos de infância, pela força que sempre me deram mesmo nas semanas (ou talvez nos meses?) em que nem sequer nos vimos. Ao Massas, Cajó, Tiago, Fábio, Lena, Diogo, Pedro, André, Bia, muito obrigado.

Por fim tenho a agradecer à minha família, por constituir a base em que me sustento. Um agradecimento em especial aos meus pais e à minha irmã, cujo apoio e paciência não vêm apenas dos últimos meses, mas antes de há uns bons 23 anos atrás.

RESUMO

A esclerose múltipla é uma doença neurodegenerativa resultante da desmielinização do sistema nervoso central. A imagem de ressonância magnética cerebral constitui o método mais utilizado no acompanhamento e avaliação da carga lesional e atrofia cerebral, aspetos que se relacionam com o prognóstico da doença. Na prática clínica estes indicadores são avaliados visualmente, mas estudos recentes têm revelado o potencial de métodos quantitativos automáticos na complementaridade e padronização desta análise. A presente dissertação expõe o desenvolvimento de um método dessa natureza, a ser integrado no serviço de neurorradiologia do Hospital Egas Moniz (HEM). Optou-se pela criação de um *plugin* no programa Osirix, cujas ferramentas de análise são executadas por meio de uma *pipeline* construída através da linguagem de comandos *bash*, recorrendo a um pacote de ferramentas do MATLAB. Desenvolvida a ferramenta, de nome QuantEmTool, foram analisados um total de 19 doentes e um sujeito controlo com exames realizados no HEM, tendo sido estudada a viabilidade de utilização das sequências FLAIR e de ponderação em T1, com e sem recurso a contraste. Foi realizada uma análise estatística de forma a estudar a possível existência de correlação dos indicadores estimados com alguns dados clínicos e hábitos de risco. Verificou-se um bom desempenho na determinação dos índices de atrofia e carga lesional para todos os protocolos de imagem. Os resultados sugerem que o protocolo que recorre às sequências FLAIR e de ponderação em T1, ambas adquiridas após a injeção de contraste, apresenta bons resultados de quantificação ao mesmo tempo que permite diminuir a duração total do exame. Uma análise baseada numa amostra maior e mais heterogênea de doentes será necessária para validar os resultados obtidos. Relativamente à segunda análise, registaram-se resultados que indiciam uma correlação entre os indicadores de atrofia e de carga lesional e alguns dos dados clínicos, entre os quais se destacam a idade, a duração da doença e o grau de severidade da mesma.

Palavras-chave:

Esclerose Múltipla; Imagem de Ressonância Magnética Cerebral; Quantificação Automática; QuantEmTool

ABSTRACT

Multiple sclerosis (MS) is a neurodegenerative disease resulting from the demyelination of the central nervous system. Brain magnetic resonance imaging is the standard method for monitoring and evaluating brain lesions and atrophy levels, known to be correlated with disease prognosis. In clinical practice these indicators are evaluated visually, but emerging studies support the potential of automatic quantification methods to complement and standardize the analysis. This dissertation is focused on the development of a method of that nature, to be integrated in the neuroradiology department of Hospital Egas Moniz (HEM). The Osirix plugin platform was chosen to implement this quantification tool, which is based on a bash command language pipeline to run the analysis, resorting to a package tool included in the MATLAB library. Having concluded the development of this tool, named QuantEmTool, a total of 20 subjects followed in HEM were analysed. Nineteen of them were diagnosed with MS, the other one being used as a control subject. The viability of using 4 different imaging protocols based on the combination of a FLAIR and a T1-weighted sequences, with and without contrast, was evaluated for the purpose of the quantification tool. A statistical analysis was run to study a possible correlation between the estimated indicators and clinical parameters, as well as behavioural risk factors. For every tested protocol, a good performance in the determination of the atrophy and lesion load indicators was obtained. The results suggest that the use of T1-weighted and FLAIR sequences, both following contrast injection, improves quantification while allowing to reduce the total exam duration. An analysis based on a bigger and broader set of samples is needed to confirm these results. As for the second study, a correlation was observed between the estimated parameters and some of the clinical data; the highest correlation factors were obtained for age, disease duration and disease severity.

Keywords: Multiple Sclerosis; Brain Magnetic Resonance Imaging; Automatic Quantification; QuantEmTool

ÍNDICE

Lista de Figuras	xvii
Lista de Tabelas	xxi
Listagens	xxiii
Siglas	xxv
1 Introdução	1
1.1 Motivação	1
1.2 Objetivos	3
1.3 Estrutura da dissertação	3
2 Fundamentos Teóricos	5
2.1 Sistema Nervoso Central	5
2.1.1 Medula Espinal	5
2.1.2 Encéfalo	6
2.1.3 Substância Branca e Cinzenta	6
2.2 Esclerose Múltipla	8
2.2.1 Variações da Doença	9
2.2.2 <i>Expanded Disability Status Scale</i>	10
2.2.3 Fatores de risco	11
2.3 Imagem de Ressonância Magnética	12
2.3.1 Parâmetros e Sequências	14
2.4 Acompanhamento Imagiológico da Esclerose Múltipla	19
2.4.1 Atrofia cerebral	20
2.4.2 Carga Lesional em diferentes sequências	22
2.5 Estado da arte de métodos de quantificação	25
2.5.1 Segmentação de lesões	25
2.5.2 Análise de Atrofia	27
3 Materiais e Métodos	29
3.1 Trabalho Desenvolvido	29
3.2 Amostra	30

3.3	Local, unidade de aquisição e protocolos	31
3.4	Ferramentas Utilizadas	33
3.4.1	OsiriX	33
3.4.2	Xcode	33
3.4.3	MATLAB	34
3.4.4	FSL	35
3.4.5	MSMetrix	35
3.4.6	Programa R	36
4	Desenvolvimento da <i>Pipeline</i>	39
4.1	Análise Volumétrica	39
4.1.1	Desenvolvimento do <i>script</i> FSL	40
4.1.2	Desenvolvimento do <i>script</i> SPM	44
4.1.3	Escolha do <i>script</i> de análise volumétrica	47
4.2	Análise da carga lesional	50
4.2.1	Integração da ferramenta LGA	50
4.3	Interface	53
4.4	Discussão	55
5	Estudos de otimização e correlação	57
5.1	Diferenças de protocolo imagiológico	57
5.1.1	Influência da natureza das sequências de imagem utilizadas	58
5.1.2	Influência da alteração de parâmetros na sequência T1 3D	61
5.2	Estudo dos resultados da ferramenta QuantEmTool	63
5.2.1	Escolha dos valores de referência	63
5.2.2	Determinação do nível de atrofia	64
5.2.3	Determinação de carga lesional	66
5.2.4	Discussão	70
5.3	Estudo de correlação com dados clínicos	73
5.3.1	Anos de doença, idade e classificação na EDSS	74
5.3.2	Vitamina D	75
5.3.3	Hábitos tabágicos	76
5.3.4	Discussão	77
6	Conclusões e Perspetivas Futuras	79
	Bibliografia	81
A	Relatórios de outras ferramentas utilizadas	89
B	Utilização da ferramenta QuantEmTool	93
C	Gráficos Auxiliares	99

C.1	Comparação de estimativas volumétricas dos <i>scripts</i> FSL e SPM	99
C.2	Análise Bland-Altman na comparação dos <i>scripts</i> FSL e SPM	101
C.3	Comparação de protocolos nas estimativas volumétricas	104
C.3.1	Volume de Substância Branca	104
C.3.2	Volume de Substância Cinzenta	106
C.3.3	Volume de Parênquima Encefálico	108
C.3.4	Volume de Líquido cefalorraquidiano	110
C.3.5	Volume de Carga Lesional	111
C.4	Estudo dos resultados da ferramenta QuantEmTool	112
C.4.1	Índices de atrofia	112
C.4.2	Carga lesional	114
C.5	Estudo de correlações clínicas	116
C.5.1	Anos de Doença	116
C.5.2	Idade	118
C.5.3	Classificação na EDSS	120
C.5.4	Índice de Vitamina D	122
C.5.5	Hábitos tabágicos	124
D	Outros apêndices	127

LISTA DE FIGURAS

2.1	Constituição do Sistema Nervoso Central	7
2.2	Estruturas do Sistema Nervoso Central	8
2.3	Influência de um campo magnético externo B_0 sob a precessão dos átomos de hidrogénio	12
2.4	Distinção entre <i>Field of View</i> e matriz de frequência e fase.	14
2.5	Diagrama relativo às curvas exponenciais de relaxação longitudinal (T1) e transversal (T2)	15
2.6	Diagrama explicativo do contraste em ponderação em T1 e T2	17
2.7	Diagrama explicativo das sequências <i>Short tau Inversion Recovery</i> e <i>Fluid Attenuation Inversion Recovery</i>	18
2.8	Fração do parênquima encefálico em várias fases da doença.	21
2.9	Lesões causadas por Esclerose Múltipla em várias modalidades de imagem.	24
4.1	Estudo das opções BET	41
4.2	Esquema da análise volumétrica FSL	44
4.3	Esquema da análise volumétrica SPM	46
4.4	Exemplo de relatório gerado pela ferramenta QuantEmTool	52
4.5	Interface da ferramenta QuantEmTool	53
A.1	Relatório da ferramenta LST	90
A.2	Relatório MSMetrix	91
B.1	Ambiente OsiriX contendo uma sequência volumétrica FLAIR e outra com ponderação em T1	93
B.2	Exportação das imagens DICOM relativas à sequência FLAIR	94
B.3	Exportação das imagens DICOM relativas à sequência FLAIR - Seleção da pasta de destino <i>Workspace</i>	94
B.4	Alteração dos nomes das pastas relativas às sequências FLAIR e T1	95
B.5	Para a seleção do <i>plugin</i> uma das imagens deve ser aberta	95
B.6	Seleção do <i>plugin</i> QuantEmTool	96
B.7	Inscrição do nome do caso a ser analisado	96
B.8	Seleção do botão <i>Correr Ferramenta</i>	97

B.9	Uma pasta com o nome submetido é criada dentro da pasta <i>Workspace</i> , sendo as imagens transferidas para este novo diretório	97
B.10	No final do processamento é disponibilizado um relatório em formato HTML, sendo os restantes ficheiros acessórios apagados	98
B.11	Relatório HTML do caso analisado, exibido no <i>browser</i> local	98
C.1	Comparação da estimativa do volume de Substância Branca dos scripts FSL e SPM com a referência	99
C.2	Comparação da estimativa do volume de Substância Cinzenta dos scripts FSL e SPM com a referência	100
C.3	Comparação da estimativa do volume de Parênquima encefálico dos scripts FSL e SPM com a referência	100
C.4	Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Branca do script SPM com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix	101
C.5	Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Branca do script FSL com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix	101
C.6	Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Cinzenta do script SPM com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix	102
C.7	Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Cinzenta do script FSL com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix	102
C.8	Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica do parênquima encefálico do script SPM com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix	103
C.9	Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica do parênquima encefálico do script FSL com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix	103
C.10	Estimativa volumétrica de Substância Branca da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados	104
C.11	Estimativa volumétrica de Substância Branca do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados	104
C.12	Estimativa volumétrica de Substância Branca da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados	105
C.13	Estimativa volumétrica de Substância Cinzenta da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados	106
C.14	Estimativa volumétrica de Substância Cinzenta do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados	106
C.15	Estimativa volumétrica de Substância Cinzenta da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados	107
C.16	Estimativa volumétrica de parênquima encefálico da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados	108

C.17 Estimativa volumétrica de parênquima encefálico do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados	108
C.18 Estimativa volumétrica de parênquima encefálico da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados	109
C.19 Estimativa volumétrica de líquido cefalorraquidiano da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados	110
C.20 Estimativa volumétrica de líquido cefalorraquidiano do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados	110
C.21 Estimativa volumétrica de carga lesional da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados	111
C.22 Estimativa volumétrica de carga lesional da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados	111
C.23 Estudo correlativo entre a fração de parênquima encefálico calculada pela ferramenta QuantEmTool e respetiva classificação na Escala de Atrofia Cortical Global	112
C.24 Estudo correlativo entre a fração de parênquima encefálico calculada pela ferramenta QuantEmTool e respetivo enquadramento de atrofia cerebral realizado pela ferramenta MSMetrix	113
C.25 Estudo correlativo entre a fração de substância cinzenta calculada pela ferramenta QuantEmTool e respetivo enquadramento de atrofia cortical realizado pela ferramenta MSMetrix	113
C.26 Estudo correlativo entre volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e a referência calculada pela ferramenta MSMetrix	114
C.27 Comparação entre a estimativa volumétrica de carga lesional para diferentes protocolos de imagem por parte da ferramenta QuantEmTool e a referência calculada pela ferramenta MSMetrix	114
C.28 Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e a referência clínica	115
C.29 Comparação entre a contagem do número de lesões para diferentes protocolos de imagem por parte da ferramenta QuantEmTool e a referência clínica	115
C.30 Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos da Doença	116
C.31 Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos da Doença	117
C.32 Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos da Doença	117
C.33 Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e a idade	118
C.34 Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e a idade	119

C.35 Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e a idade	119
C.36 Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e a classificação na EDSS	120
C.37 Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e a classificação na EDSS	121
C.38 Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e a classificação na EDSS	121
C.39 Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e o índice de vitamina D	122
C.40 Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e o índice de vitamina D	122
C.41 Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e o índice de vitamina D	123
C.42 Estudo correlativo entre a classificação na EDSS e o índice de vitamina D	123
C.43 Estudo da influência do tabagismo na fração do parênquima encefálico	124
C.44 Estudo da influência do tabagismo na fração de substância cinzenta	124
C.45 Estudo da influência do tabagismo no volume de carga lesional	125
C.46 Estudo da influência do tabagismo no número de lesões	125
C.47 Estudo da influência do tabagismo na classificação na EDSS	126
D.1 Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, onde o HEM se insere.	128
D.2 Imagem de ponderação em T1 3D relativa a um sujeito do grupo 2. É possível distinguir um granulado na imagem, resultante da influência de artefactos de ruído.	129
D.3 Imagem de ponderação em T1 3D relativa a um sujeito do grupo 3. A imagem mostra-se claramente mais esbatida e com menos influência de ruído, algo conseguido pela diminuição da resolução espacial e consequente aumento da razão sinal-ruído.	130

LISTA DE TABELAS

3.1	Parâmetros imagiológicos das sequências adotadas	32
4.1	Opções escolhidas para a ferramenta BET	41
4.2	Mediana de erro relativo para o volume estimado de tecidos encefálicos . . .	48
4.3	Análise Bland-Altman e do CCI na comparação das estimativas de tecidos encefálicos por parte dos <i>scripts</i> FSL e SPM com os valores de referência . . .	49
5.1	Aplicação do Teste de Friedman na análise de diferenças entre protocolos imagiológicos para a estimativa volumétrica de estruturas encefálicas e de carga lesional por parte de 3 ferramentas de análise	58
5.2	Aplicação do teste <i>post hoc</i> de Bonferroni na análise de diferenças entre cada par de protocolo imagiológico para a estimativa volumétrica efetuada pela ferramenta QuantEmTool	59
5.3	Aplicação do teste <i>post hoc</i> de Bonferroni na análise de diferenças entre cada par de protocolo imagiológico para a estimativa volumétrica efetuada pelas ferramentas FSL e MSMetrix	60
5.4	Aplicação do teste Kruskal-Wallis na análise de diferenças na estimativa volumétrica em imagens com parâmetros imagiológicos distintos na sequência T1 3D	61
5.5	Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa da FPE efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência	64
5.6	Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa da FSC efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência	65
5.7	Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa do volume de carga lesional efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência	66
5.8	Mediana do erro absoluto e mediana do módulo do erro absoluto na determinação de volumetria da carga lesional em cada protocolo de imagem adotado	67
5.9	Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa do número de lesões efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência	68

5.10 Mediana do erro absoluto e mediana do módulo do erro absoluto na determinação do número de lesões em cada protocolo de imagem adotado	69
5.11 Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre os 4 indicadores estimados pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos de doença, idade e classificação na EDSS.	74
5.12 Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa do índice de vitamina D com os 4 indicadores estimados pela ferramenta QuantEmTool e a classificação na EDSS	75
5.13 Aplicação do teste de Mann-Whitney na análise de diferenças entre grupos de doentes fumadores e não fumadores na estimativa da FPE, FSC, volume lesional e número de lesões por parte da ferramenta QuantEmTool, bem como na sua classificação na EDSS	76

LISTAGENS

SIGLAS

BET *Brain Extraction Tool.*

BHE Barreira Hematoencefálica.

CCI Coeficiente de Correlação Intraclass.

DICOM *Digital Imaging and Communications in Medicine.*

DP Densidade Protónica.

EACG Escala de Atrofia Cortical Global.

EDSS *Expanded Disability Status Scale.*

EM Esclerose Múltipla.

FAST *FMRI's Automated Segmentation Tool.*

FID *Free Induction Decay.*

FLAIR *Fluid Attenuation Inversion Recovery.*

FLAIRc FLAIR *Cube* com contraste.

FLAIRs FLAIR *Cube* sem contraste.

FLIRT *FMRI's Image Registration Tool.*

FOV *Field of View.*

FPE Fração do parênquima encefálico.

FSC Fração de Substância Cinzenta.

HEM Hospital Egas Moniz.

HTML *HyperText Markup Language.*

IBEB Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica.

IRM Imagem por Ressonância Magnética.

IRS *Inversion Recovery Sequence.*

LCR Líquido cefalorraquidiano.

LGA *Lesion Growth Algorithm.*

LST *Lesion Segmentation Tool.*

ml mililitros.

ms milissegundos.

NIfTI *Neuroimaging Informatics Technology Initiative.*

RF Radiofrequência.

RM Ressonância Magnética.

SB Substância Branca.

SC Substância Cinzenta.

SN Sistema Nervoso.

SNC Sistema Nervoso Central.

STIR *Short tau Inversion Recovery.*

T1c T1 3D com contraste.

T1s T1 3D sem contraste.

TE Tempo de Eco.

TI Tempo de Inversão.

TR Tempo de Repetição.

INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

A Esclerose Múltipla (EM) é a doença inflamatória desmielinizante mais comum do Sistema Nervoso Central (SNC), caracterizando-se pela presença de lesões focais que causam défices neurológicos diversos com evolução progressiva [1]. Estima-se que cerca de 2,5 milhões de pessoas em todo o mundo sofram desta condição [2].

A Ressonância Magnética (RM) cerebral é uma técnica fundamental na avaliação de doentes com EM, permitindo um acompanhamento que inclui o diagnóstico, a melhor compreensão da evolução da doença e prognóstico do doente e ainda a assistência na monitorização dos efeitos da abordagem terapêutica [3]. A Imagem por Ressonância Magnética (IRM) tem sofrido uma grande evolução nos últimos anos no que diz respeito à natureza e qualidade de protocolos, forçando a prática clínica a estar em permanente atualização [3]. Em particular para a EM verifica-se uma grande variedade de protocolos adotados, refletindo preferências estratégicas por parte do corpo clínico ou simplesmente a disponibilidade do equipamento em uso [4]. Perante esta crescente divergência têm sido conduzidos alguns estudos [3–5] no sentido de aferir as sequências imagiológicas que otimizam a análise da doença. Em todos eles parece existir um consenso no que diz respeito à necessidade de adoção de um protocolo único.

As imagens de RM possibilitam a avaliação de lesões da Substância Branca (SB) (carga lesional) e do grau de atrofia cerebral, aspetos que se relacionam com o prognóstico da doença [6]. Na prática clínica estes indicadores são avaliados apenas visualmente, mas estudos recentes têm revelado o potencial de métodos quantitativos automáticos/semi-automáticos, permitindo identificar com maior precisão pequenas variações quantitativas que poderiam inclusivamente ser indetetáveis visualmente, e melhorando a reprodutibilidade intra e interobservador das avaliações. Um método automático seria especialmente

interessante para diminuir o tempo dispensado por cada caso pelo especialista, mas sobretudo para padronizar a quantificação das leituras de IRM [7].

É já grande o impacto que esta modalidade imagiológica imprimiu no conhecimento da EM e na melhoria da qualidade de vida de cada doente. No entanto, há ainda um longo caminho a percorrer no que diz respeito à otimização de imagens e protocolos, bem como no aproveitamento da informação que estas imagens nos disponibilizam. A presente dissertação assume-se assim como mais um esforço neste sentido.

1.2 Objetivos

O principal objetivo estabelecido para este trabalho foi a introdução de métodos quantitativos automáticos de avaliação da carga lesional e do volume cerebral em imagens de RM de doentes com EM seguidos no Hospital Egas Moniz (HEM) e que realizam RM no decurso da doença, no sentido de complementar a análise qualitativa já realizada por médicos neurorradiologistas.

Para a concretização do mesmo foi necessário estabelecer quais as sequências de RM que mais se adequam à ferramenta desenvolvida e às condições do próprio hospital. Assim, conta-se também como objetivo a adaptação do protocolo imagiológico para o estudo da doença em questão.

Por último procurou-se ainda avaliar a existência de uma possível correlação entre os dados volumétricos e lesionais estimados recorrendo ao algoritmo desenvolvido e os dados clínicos do doente, em particular aqueles que dizem respeito a manifestações físicas e/ou cognitivas.

1.3 Estrutura da dissertação

A presente dissertação assenta numa estrutura de 6 capítulos, procurando apresentar o trabalho desenvolvido de uma forma sequencial. Assim, além do presente capítulo onde se apresenta a motivação para o projeto, os objetivos e a estruturação da dissertação, é importante mencionar os restantes cinco:

- **Capítulo 2** - Fundamentos Teóricos;
- **Capítulo 3** - Materiais e Métodos;
- **Capítulo 4** - Desenvolvimento da *pipeline*;
- **Capítulo 5** - Estudos de otimização e correlação;
- **Capítulo 6** - Conclusões e Perspetivas futuras.

No início de cada um destes capítulos é feita uma breve descrição do que irá ser apresentado, procurando melhorar o enquadramento do leitor relativamente aos assuntos abordados.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

É realizado um breve enquadramento acerca das estruturas anatómicas afetadas pela EM, seguindo-se uma descrição mais pormenorizada da própria doença. Referem-se também os conceitos básicos da IRM e de que forma é que podemos tirar partido dos seus parâmetros para obter imagens. Reserva-se uma outra subsecção para abordar o acompanhamento imagiológico da EM, evidenciando de forma mais particular os indicadores e sequências a que se recorreu no âmbito da presente dissertação. Termina-se com uma revisão do estado da arte acerca dos métodos quantitativos de avaliação da EM.

2.1 Sistema Nervoso Central

O SNC constitui o centro de processamento do Sistema Nervoso (SN), assumindo a função de controlo e coordenação de todas as atividades do organismo [8]. Este sistema compreende dois órgãos – a medula espinal e o encéfalo.

2.1.1 Medula Espinal

A medula espinal é um órgão cilíndrico inserido no interior da coluna vertebral, que lhe confere proteção, estendendo-se desde a abertura ossular designada de *foramen magnum* até à primeira vértebra lombar. A sua principal função prende-se com a comunicação por meio de fibras nervosas motoras e sensoriais, que garantem o fluxo de informação quer do encéfalo para as restantes regiões do corpo, quer no sentido inverso. Dividida longitudinalmente em quatro zonas (cervical, torácica, lombar e sacral), é desta estrutura que partem as fibras nervosas responsáveis pela inervação de todas as regiões do corpo [9], como se pode observar na figura 2.1.a.

2.1.2 Encéfalo

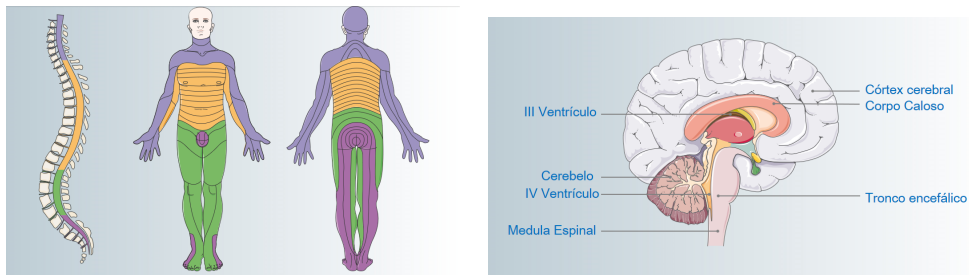
Centro de controlo do corpo, o encéfalo assume a responsabilidade de integrar e processar a informação que lhe é transmitida pela medula espinal. Sendo protegido pela caixa craniana, este divide-se em três regiões principais:

- Cerebelo – estrutura oval, responsável pela coordenação de movimentos, o equilíbrio e o tônus muscular;
- Tronco encefálico – região que conecta o cérebro à medula espinal, assumindo um importante papel na coordenação motora. É ainda responsável por funções de cariz inconsciente, entre as quais se destacam o estado de alerta, a excitação sexual, a respiração, a pressão sanguínea, a digestão e o ritmo cardíaco;
- Cérebro – dividido em dois hemisférios cuja comunicação é assegurada por uma estrutura denominada de corpo caloso, é responsável por uma variedade de funções cognitivas consideradas de alto nível de complexidade, que incluem a receção e processamento da informação sensorial, o pensamento, a produção e compreensão da linguagem. Cada hemisfério é dividido em 4 lobos, cujos nomes se devem aos ossos cranianos que os limitam superiormente: frontal, parietal, temporal e occipital. A superfície de cada hemisfério é conhecida como o córtex cerebral, ou região cortical, sendo caracterizada por circunvoluções com saliências (giros corticais) e fissuras (sulcos corticais) que aumentam a sua área eficaz no volume confinado que é a caixa craniana. Cada uma das áreas do córtex cerebral é responsável por uma atividade específica. Entre os hemisférios localizam-se ainda os ventrículos cerebrais (ventrículos laterais e terceiro ventrículo), reservatórios de Líquido cefalorraquidiano (LCR) que asseguram a nutrição, proteção e excreção do sistema nervoso. Um quarto ventrículo situa-se mais abaixo, ao nível do tronco encefálico, completando aquele que é conhecido como o sistema ventricular [10, 11].

A figura 2.1.b permite uma melhor compreensão da constituição e organização do encéfalo.

2.1.3 Substância Branca e Cinzenta

O neurónio é a unidade de operação básica do SN, sendo responsável, entre outras funções, pela propagação do estímulo elétrico que lhe é transmitido. Existem vários tipos de neurónios, cada um especializado para a função que assume. No entanto, todos eles respeitam uma estrutura e princípio de funcionamento básicos: as dendrites recebem informação dos recetores sensoriais ou de outros neurónios. Esta informação é conduzida para o corpo celular, que a integra e transmite para o axónio. O sinal atravessa depois o comprimento do axónio sob a forma de potencial de ação, até chegar à zona de sinapse, onde é transmitido para um novo neurónio sob a forma de neurotransmissor. A figura



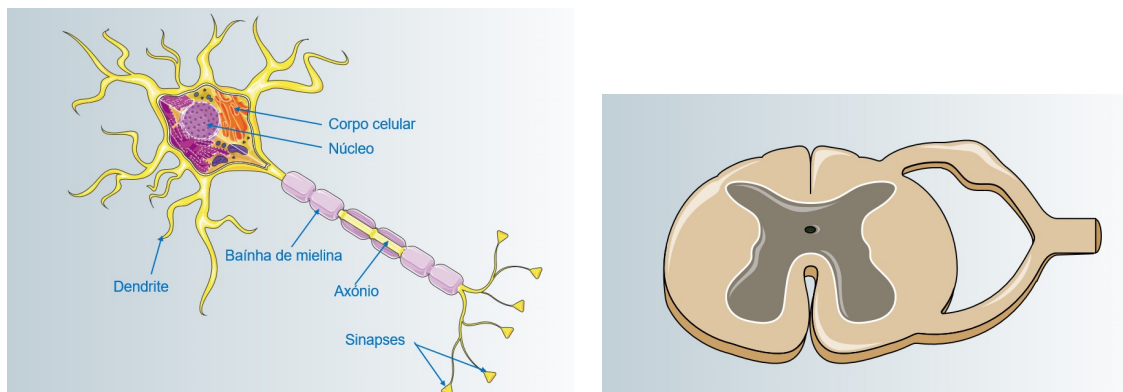
(a) Medula espinal evidenciando as zonas de inervação: A zona cervical é responsável pela inervação dos membros superiores e pescoço, a torácica pela região torácica anterior e posterior, a lombar pela região anterior dos membros inferiores e a sacral pelas gónadas e região posterior dos membros inferiores

(b) Constituição do encéfalo. É possível observar a um nível mais inferior a medula espinal, que se liga ao cérebro por meio do tronco encefálico. No mesmo plano encontra-se o cerebelo e o IV ventrículo. Numa zona mais superior situam-se o III ventrículo e o corpo caloso, órgãos que dividem o cérebro em dois hemisférios. É ainda possível identificar a região do córtex cerebral, fortemente marcada por giros e sulcos corticais.

Figura 2.1: Constituição do Sistema Nervoso Central. Adaptado de [12].

2.2.a ilustra a estrutura descrita. É no axónio que a bainha de mielina é crucial, ao permitir que a propagação do potencial de ação ocorra de forma suficientemente rápida e eficaz. Esta barreira isolante apresenta uma cor branca, residindo nesse facto a designação de Substância Branca (SB) para zonas nervosas mais mielinizadas, e de Substância Cinzenta (SC) para regiões que apresentem mais corpos celulares e menos bainhas de mielina. O volume de SB e SC denomina-se de parênquima encefálico, por se tratar do tecido que cumpre a principal função do encéfalo. Este é complementado pelo estroma encefálico, constituído essencialmente pelo LCR e que desempenha funções de suporte ao parênquima.

Com uma organização altamente funcional, o SNC apresenta de facto zonas compostas por SB e zonas caracterizadas por uma maior concentração de SC, sendo as primeiras associadas ao fluxo de informação e as segundas ao processamento da mesma. A região cortical, por exemplo, é caracterizada pela SC, sendo que a região sub-cortical se distingue pela predominância de SB. O corpo caloso é também conhecido por ser fundamentalmente constituído por SB. Numa perspetiva transversal, a medula espinal caracteriza-se pela existência de SC na zona central e SB na periferia [8], como podemos conferir na figura 2.2.b.



(a) Estrutura essencial de um neurónio. As dendrites recebem informação dos recetores sensoriais ou de outros neurónios. Esta informação é conduzida para o corpo celular, que a integra e transmite para o axónio, que está envolto pela bainha de mielina. O sinal atravessa depois o comprimento do axónio sob a forma de potencial de ação, até chegar à zona de sinapse, onde é transmitido para um novo neurónio sob a forma de neurotransmissor.

(b) Corte transversal da medula espinal, exibindo a Substância Cinzenta no centro e a Substância Branca na periferia

Figura 2.2: Estruturas do Sistema Nervoso Central. Adaptado de [12].

2.2 Esclerose Múltipla

A EM é uma doença crónica, inflamatória e degenerativa, que resulta da desmielinização do SNC [1]. Caracteriza-se pela existência de múltiplas lesões maioritariamente localizadas na SB (onde existe uma maior densidade de mielina), que podem evoluir para perdas axonais. O termo esclerose refere-se às cicatrizes criadas por estas lesões. As causas que estão na origem desta condição são ainda desconhecidas, sendo que se aponta principalmente para fatores genéticos e ambientais, havendo ainda estudos que associam a doença a infeções virais [13]. Acredita-se que estes fatores conduzam a uma resposta desadequada do sistema imunitário do doente, que sinaliza a bainha de mielina como elemento indesejado no organismo, atacando-a. A EM é por isso considerada uma doença auto-imune [1]. Dada a multiplicidade de locais em que as lesões podem ocorrer, uma grande variedade de sintomas pode ser registada. A caracterização da progressão e severidade da doença num indivíduo é assim bastante difícil, uma vez que cada caso evolui de forma diferente. As primeiras manifestações podem incluir tremores, dormência nos membros, perturbação da fala, alterações visuais, perda de coordenação ou fadiga muscular. Em estádios mais avançados da doença pode verificar-se um cansaço atípico, rigidez muscular, descontrolo na função intestinal ou vesical, disfunção sexual, paralisia ou perda de visão. Os primeiros sintomas são normalmente registados entre o final da adolescência (18 anos) e o início da meia-idade (35 anos), sendo os sintomas associados à fase progressiva da doença mais comuns em idades a partir dos 40 anos [1].

2.2.1 Variações da Doença

O curso clínico que a doença pode tomar permite estabelecer uma distinção entre vários tipos de EM:

- Surto-Remissão – a maior parte dos doentes (85%-90%) sofre deste tipo de EM. É marcada por períodos ativos da doença, durante os quais os axónios são atacados pelo sistema imunitário. Estes períodos são denominados de ataques ou surtos, sendo seguidos por períodos de acalmia, nos quais as ditas regiões deixam de registar ataques – períodos de remissão. Os períodos de remissão podem ser totais ou parciais, sendo que os sintomas podem tornar-se bastante severos durante algum tempo e depois desaparecer. A alternância entre os dois estados parece assumir um comportamento imprevisível [1];
- Secundariamente Progressiva - inicia-se sob a forma clínica de surtos, sendo que, à medida que o tempo passa, ocorre uma perda gradual de certas funções cuja recuperação se revela incompleta, o que lhe confere um carácter progressivo;
- Primariamente Progressiva - variante mais agressiva da doença que, não apresentando surtos, se caracteriza por uma perda gradual e insidiosa de diversas funções. Não regista recuperações, resultando em paralisias totais em períodos compreendidos entre 3 e 5 anos [1].
- Benigna – é caracterizada por EM de surto-remissão que, com o decorrer do tempo, revela perda inexistente ou muito reduzida de capacidades.

A divisão da EM em variantes clínicas de acordo com a progressão da doença é muitas vezes determinada através de uma avaliação retrospectiva do que se passou até determinado momento. O facto de um doente apresentar num determinado momento uma forma específica de EM não significa que se possa prever com segurança o decurso da doença [14].

2.2.2 *Expanded Disability Status Scale*

A escala expandida do estado de incapacidade de Kurtzke (EDSS, do inglês *Expanded Disability Status Scale*) constitui um método de quantificação do grau de incapacidade decorrente da evolução da EM. Compreende uma classificação de 0 a 10 com incremento mínimo de 5 décimas, em que os maiores valores estão associados a um maior grau de incapacitação. A pontuação fundamenta-se num exame realizado pelo médico neurologista, que avalia o grau de inaptidão com base em oito sistemas funcionais [15]:

- Piramidal – fraqueza ou dificuldade em mover os membros;
- Cerebelar – ataxia (perda de coordenação) ou tremor;
- Tronco encefálico – problemas com discurso, deglutição ou nistagmo (oscilações repetidas e involuntárias rítmicas de um ou ambos os olhos);
- Sensorial – entorpecimento ou perda de sensações;
- Função intestinal e vesical;
- Função visual;
- Função cognitiva;
- Outros;

2.2.3 Fatores de risco

No estudo da EM verificou-se que a adoção de certos comportamentos ou simplesmente a exposição a alguns fatores ou mudanças fisiológicas podem conduzir a um risco acrescido na evolução da doença.

Sabe-se por exemplo que a prevalência de casos se relaciona com fatores geográficos, verificando-se maior incidência em regiões de maior latitude. Este facto sugere que a exposição solar e a resultante variação na produção de vitamina D assumem um fator influente na aparição e evolução da doença [16, 17]. Além do seu importante papel na homeostasia do cálcio, a vitamina D é conhecida pela sua acção imunomoduladora e anti-inflamatória. Fortes evidências sugerem que esta assume um papel bastante importante na reatividade de células imunitárias em doentes com EM. Alguns estudos sugerem ainda que a um alto nível de metabolismo de vitamina D se associam menos ocorrências de surtos de EM, bem como menores índices de classificação em escalas de incapacidade, categoria na qual a EDSS se inclui [17, 18].

Também os hábitos tabágicos parecem exercer uma forte influência na evolução da EM [18]. Fumadores que tenham sido diagnosticados com a doença e continuem a adotar esse hábito após o dito momento, apresentam pior evolução do que os doentes que entretanto se abstiveram desse comportamento [19]. Alguns estudos observacionais sugerem também que os hábitos tabágicos aceleram a conversão de casos de surto-remissão para uma variação mais severa da doença, a secundariamente progressiva. Estes registaram ainda uma forte correlação com o aumento da incapacidade do doente, não se tendo no entanto verificado uma relação com a frequência de surtos [18]. Pensa-se que a exposição dos pulmões aos compostos presentes no fumo do tabaco poderá interferir no normal funcionamento da resposta imunitária [19].

A EM afeta cerca de três vezes mais as mulheres do que os homens. A literatura sugere uma tendência de agravamento da doença e respetivos sintomas em associação com fases de diminuição dos níveis de estrogénio, de que é exemplo a menopausa [20, 21]. Sabe-se que o estrogénio se relaciona com a maturação de células neuronais e com a resposta anti-inflamatória. Além do mais, o envelhecimento cognitivo associado à menopausa sugere que a diminuição do nível de estrogénio proveniente dos ovários pode resultar na perda dos mecanismos de reparação do cérebro e eventual neurodegeneração. Assim, a menopausa só por si pode alterar a resposta imunitária e anti-inflamatória, independentemente dos efeitos que a própria doença já provoca [20].

2.3 Imagem de Ressonância Magnética

A IRM é uma técnica imagiológica não-invasiva que possibilita a obtenção de imagens 3D de alto detalhe anatômico sem necessitar de recorrer a radiação ionizante [22]. Baseia-se no hidrogénio, átomo em maior abundância no corpo humano e com propriedades magnéticas que são favoráveis à ocorrência do fenómeno de RM. Na ausência de um campo magnético externo, a orientação dos vetores magnetização de cada átomo de hidrogénio é aleatória, respeitando o princípio da menor energia e consequentemente produzindo um momento magnético total nulo. Sob a influência de um forte campo magnético externo que designaremos de B_0 , os prótons registam um movimento de precessão em torno de um eixo com a direcção do campo aplicado. As duas situações descritas são ilustradas na figura 2.3. O movimento de precessão assume uma frequência conhecida como a frequência de Larmor (ω_0), podendo ser calculada com recurso à equação $\omega_0 = \gamma \times B_0$, na qual γ representa a constante giromagnética de valor característico do elemento em causa, e B_0 a intensidade do campo magnético a que este é submetido.

Perante a influência de B_0 , os vetores magnetização associados aos *spins* assumem uma de duas disposições – paralela ou anti-paralela à direcção do campo magnético externo. Sendo a primeira correspondente ao estado de menor energia, verifica-se uma ligeira assimetria na distribuição dos *spins* devido a uma maior tendência de ocupação desse estado (sinalizada também na figura 2.3, com dois *spins* com uma disposição anti-paralela e três outros com uma disposição paralela), o que faz com que o vetor de magnetização total passe a assumir uma direcção longitudinal, paralela à direcção de B_0 . O vetor não apresenta no entanto uma componente transversal, devido ao facto de não haver uma concordância na fase dos vetores magnetização associados ao movimento de precessão de cada *spin*.

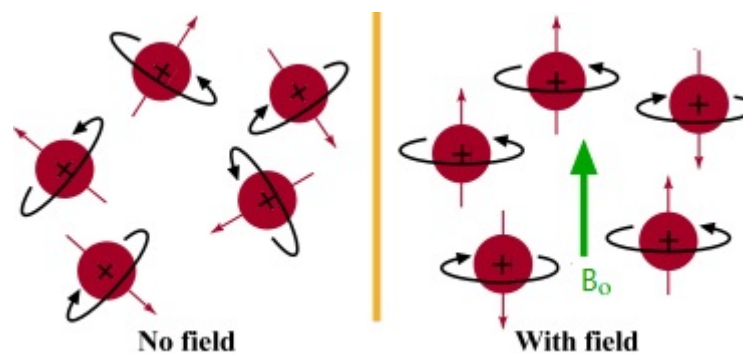


Figura 2.3: Influência de um campo magnético externo B_0 sob a precessão dos átomos de hidrogénio. Adaptado de [23]. Na ausência de um campo magnético externo, a orientação dos vetores magnetização de cada átomo de hidrogénio é aleatória, produzindo um momento magnético total nulo. Perante a influência de B_0 , os vetores magnetização associados aos *spins* assumem uma de duas disposições – paralela ou anti-paralela à direcção do campo magnético externo.

É de seguida introduzido um impulso de Radiofrequência (RF) de frequência igual à de Larmor que força o próton a um fenómeno conhecido como ressonância nuclear, no qual o vetor magnetização total absorve a energia que lhe é transmitida, resultando num realinhamento com a direção resultante da combinação de B_0 com o campo B_1 produzido pelo impulso RF, num ângulo conhecido como *flip angle*. Quando este campo é desligado, a magnetização total readquire a direção de B_0 , gerando um sinal denominado de decaimento de indução livre, mais conhecido pelo termo em inglês *Free Induction Decay* (FID). É este sinal que, ao refletir a relaxação do vetor magnetização, está na base da aquisição da IRM, uma vez que os tempos de relaxação transversal e longitudinal do dito vetor são característicos de cada tipo de tecido orgânico. Ao campo B_0 podem ser adicionados 3 gradientes nas 3 direções espaciais, atuados por pares de bobinas que produzem variações lineares na sua intensidade, embora mantendo a mesma direção. São estas variações que permitem escolher um determinado plano de corte da imagem através da discriminação de frequências de precessão. Assim, consoante o plano que pretendemos selecionar, é aplicado um impulso RF cuja frequência permite excitar por fenómeno de ressonância - e posteriormente adquirir uma imagem - de um plano específico que apresenta essa mesma frequência.

Após a seleção do volume anatómico de interesse, recorre-se a gradientes de codificação de fase e frequência de forma a guardar a informação espacial da imagem numa matriz denominada de espaço-K, cujos dados são entendidos como estando no espaço de *Fourier*. Por fim, a imagem final que habitualmente associamos à RM é obtida através de uma transformada inversa de *Fourier*, sendo composta por uma matriz de elementos volúnicos de imagem conhecidos como *voxels*, contendo cada um deles um valor na escala de cinzentos correspondente à intensidade do sinal [24].

Todas as estruturas anatómicas contidas num *voxel* contribuem para a intensidade média do sinal da imagem. Se esta unidade volúmica contiver muitas estruturas e tipos de tecido, estas serão indistinguíveis no *voxel* correspondente da imagem final. Assim, se as dimensões do *voxel* forem mais reduzidas, a resolução espacial e o contraste serão melhores. No entanto, quanto menor for o *voxel*, menor será o sinal e portanto menor será a razão sinal-ruído. Devido à necessidade de realizar codificação espacial, a isso acresce o aumento do tempo de aquisição, que contribui para o desconforto do sujeito e por sua vez para o aumento de artefactos na própria imagem. Na definição da resolução espacial deve assim existir uma cuidada ponderação de todos estes fatores.

A resolução espacial depende essencialmente de três parâmetros - o campo de visão, mais conhecido pelo termo em inglês *Field of View* (FOV), a área da matriz de codificação de frequência e fase e a profundidade do *voxel*, esta última mais conhecida pelo termo em inglês, *slice thickness*¹. O primeiro diz respeito à área que se pretende representar na imagem, sendo preenchido pela matriz de frequência e fase. Dividindo o FOV pelas

¹ Em português recorre-se normalmente ao termo espessura do corte

dimensões da matriz obtem-se a área transversal de um *voxel*, ou área do *pixel*, frequentemente referida pelo termo *pixel spacing*. A figura 2.4 permite compreender a distinção dos dois conceitos. Como se pode comprovar, para uma matriz constante, (igual número de elementos, neste caso 6x6), o volume do *voxel* será tanto maior quanto maior for o FOV. O aumento da resolução espacial é assim conseguido com a diminuição do FOV ou o aumento do número de elementos da matriz. A *slice thickness* é controlada de forma independente, sendo inversamente proporcional à resolução espacial. [25, 26].

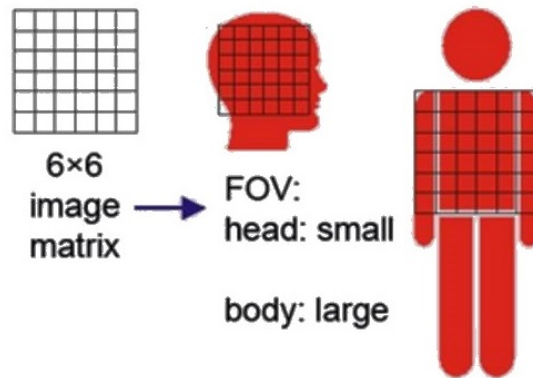


Figura 2.4: Distinção entre *Field of View* e matriz de frequência e fase [25]. O primeiro diz respeito à área que se pretende representar na imagem, sendo preenchido pelo segundo. Dividindo o FOV pelas dimensões da matriz obtem-se a área transversal de um *voxel*, também conhecida por *pixel*. Para uma matriz constante, a área do *pixel* será tanto maior quanto maior for o FOV.

2.3.1 Parâmetros e Sequências

É neste momento importante saber distinguir os conceitos de magnetização longitudinal e transversal – enquanto a primeira reflete o número de *spins* no estado paralelo e anti-paralelo (referente à direção de B_0), a segunda explica-se pelo número de *spins* em coerência de fase. Foi já referido que, numa fase anterior à atuação do impulso RF, o vetor magnetização possui uma componente longitudinal, assumindo uma componente transversal nula. No entanto esta situação altera-se aquando da atuação do impulso RF, verificando-se um decréscimo da magnetização longitudinal e um aparecimento da magnetização transversal. Excetua-se apenas impulsos RF correspondentes a *flip angles* de 180° , em que a magnetização longitudinal é invertida, mantendo-se nula a magnetização transversal. Se por outro lado considerarmos *flip angles* de 90° , verifica-se o anulamento da componente longitudinal e um alinhamento de fase na precessão, que se exprime por um máximo de magnetização transversal. Compreende-se assim que também se distingam os conceitos de relaxação longitudinal e relaxação transversal. A relaxação longitudinal corresponde à recuperação da magnetização longitudinal, enquanto a relaxação transversal se refere ao decaimento da magnetização transversal. Para quantificar estes processos temos os parâmetros T1 e T2, constantes de tempo na ordem dos milissegundos (ms) que

descrevem a evolução exponencial do sinal. A relaxação transversal ocorre mais rapidamente do que a longitudinal, pelo que T2 se revela sempre menor que T1. O diagrama da figura 2.5 permite uma melhor compreensão dos conceitos descritos, ao ilustrar a evolução das curvas exponenciais de relaxação transversal e longitudinal numa situação em que foi utilizado um impulso que aplica um *flip angle* de 90°.

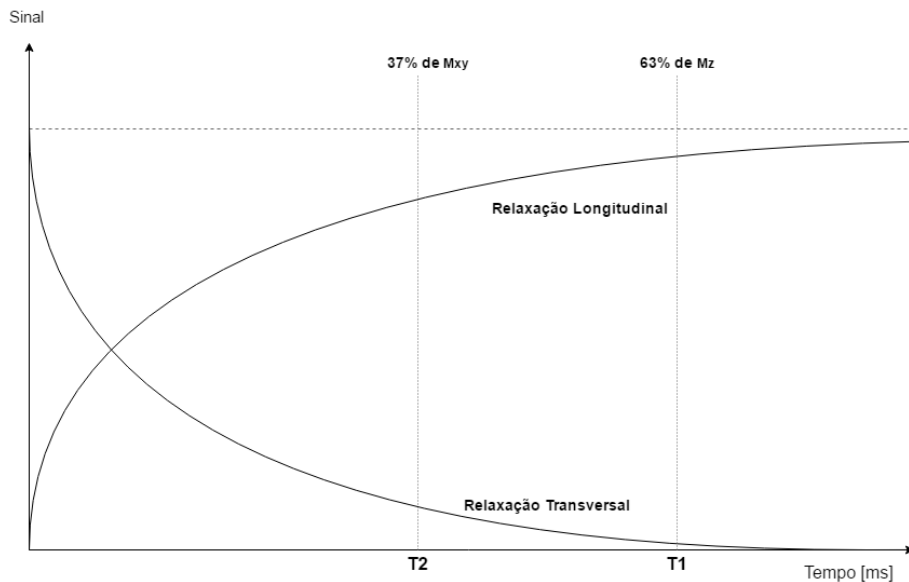


Figura 2.5: Diagrama relativo às curvas exponenciais de relaxação longitudinal (T1) e transversal (T2), numa situação em que foi utilizado um impulso de RF que aplica um *flip angle* de 90°. O T1 corresponde ao tempo que a componente de magnetização longitudinal demora a readquirir 63% do seu valor de magnetização inicial, enquanto que o T2 diz respeito ao tempo que a componente de magnetização transversal leva até representar 37% do valor de magnetização máximo atingido. T2 é sempre menor que T1.

Para diferentes tipos de imagem podemos usar diferentes sequências de impulsos RF e de gradientes, de forma a maximizar o contraste entre os tecidos que se pretende estudar. Podemos distinguir dois tipos principais de sequência:

- *Spin Echo* – aplica-se primeiro um impulso de RF de 90°, seguindo-se um impulso de refasamento (180°) que permite compensar as heterogeneidades do campo e determinar T2;
- *Gradient Echo* – em geral aplica-se um impulso de RF que provoca um *flip angle* menor do que 90°, dando-se uso de seguida a gradientes de desfaseamento e refasamento. Como resultado consegue-se obter uma imagem de forma mais rápida, embora se perca algum sinal devido à falta de um impulso de refasagem que permita eliminar artefactos de imagem relacionados com a falta de homogeneidade do campo magnético B_0 .

A partir destes dois tipos de sequências foram desenvolvidas numerosas variações, com o intuito de aumentar a velocidade de aquisição ou fazer variar o contraste das imagens.

Uma sequência possui dois parâmetros essenciais: Tempo de Repetição (TR) e Tempo de Eco (TE). O TR é o intervalo de tempo entre dois impulsos RF de 90° sucessivos, condicionando a relaxação longitudinal dos tecidos cujo contraste depende de T1 – quanto maior for o TR, mais completa será a recuperação de magnetização longitudinal e portanto menos diferenciados serão os tecidos relativamente ao valor de T1. Reduzir o TR vai tornar a imagem mais ponderada em T1, uma vez que as diferenças entre a relaxação longitudinal serão enaltecidas, como se pode conferir na figura 2.6. No modelo clássico de uma sequência de *spin echo*, cada linha do espaço-k terá sido completamente preenchida após TR. Este é assim responsável pela duração da sequência. O TE corresponde ao intervalo de tempo entre o impulso RF de 90° e a receção do eco - o sinal produzido pela magnetização transversal. A magnetização transversal diminui de acordo com a constante T2 de cada tecido, sendo refasada pelo impulso de 180° aplicado no instante $TE/2$ que permite anular os artefactos associados às heterogeneidades de B_0 . Na imagem ponderada em T2, os parâmetros TR e TE são otimizados para refletir a relaxação associada a T2. Quando o TR é longo (pelo menos 5 vezes o valor de T1), a recuperação da magnetização longitudinal é completa e portanto a influência de T1 na imagem será minimizada. Quando esta é associada a TE intermédios (60 a 80 ms), as diferenças no contraste serão essencialmente justificadas pelas diferenças no T2. Assim, tecidos que apresentem T2 longos apresentarão um sinal mais intenso quando comparados com tecidos de T2 mais reduzidos, como podemos também observar pela figura 2.6. Um longo TR associado a um curto TE (10 a 20 ms) irá suprimir a influência tanto de T1 como de T2 na imagem, fazendo com que o contraste fique essencialmente a depender da densidade protónica. Este tipo de imagens são assim conhecidos como imagens de Densidade Protónica (DP).

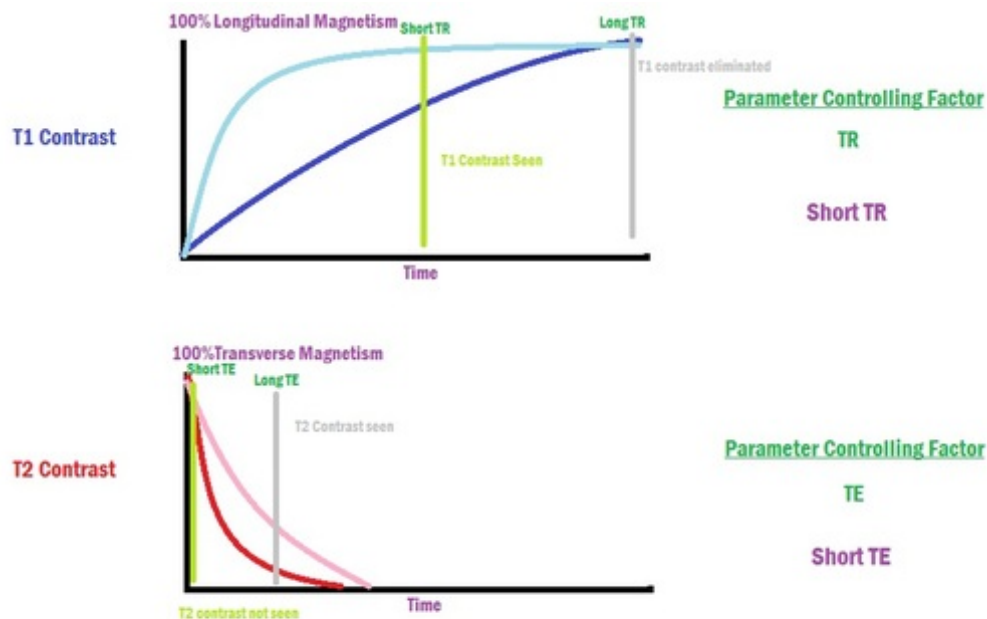


Figura 2.6: Diagrama explicativo do contraste em ponderação em T1 e T2 [27]. Quanto maior for o TR, mais completa será a recuperação de magnetização longitudinal e portanto menos diferenciados serão os tecidos relativamente ao valor de T1. O TR constitui assim o parâmetro limitante nas imagens de ponderação em T1. Quando o TR é longo a influência de T1 na imagem será minimizada, algo que associado a TE intermédios (descrito na imagem como *Long TE*), resultará numa imagem de ponderação em T2, ou seja, cujo contraste se baseia nas diferenças de magnetização transversal. O TE é portanto o parâmetro limitante nas imagens de ponderação em T2

É ainda importante referir um outro tipo de sequências, que acrescenta uma pequena mas subtil alteração – antes de ser atuado a sequência *spin* ou *gradient echo*, é utilizado um impulso de 180° que inverte a magnetização longitudinal. Estas sequências são designadas de sequências de inversão de recuperação, sendo mais conhecidas pelo termo em inglês - *Inversion Recovery Sequence* (IRS). O tempo decorrido entre o instante do impulso inicial de 180° e o impulso de 90° corresponde ao Tempo de Inversão (TI). Com este tipo de sequência a recuperação longitudinal inicia-se logo a partir da atuação do impulso de 180° , sendo que é possível que a magnetização total se anule num determinado instante (para passar de um valor negativo para um valor positivo o vetor magnetização terá de ser nulo em algum momento). Consegue-se assim escolher um TI tal que o vetor magnetização de um determinado tecido seja nulo, o que pode ser bastante vantajoso em determinadas situações. Este tipo de sequências revela-se ainda bastante útil no aumento de contraste entre determinadas estruturas, podendo por isso ser integrado em sequências de ponderação em T1 ou T2.

Podemos distinguir duas importantes modalidades nas IRS, que se prendem essencialmente com o valor de TI:

- Sequência de recuperação da inversão com TI curto, do inglês *Short tau Inversion Recovery* (STIR) – Técnica que usa um TI curto (na ordem dos 170 ms para aquisições a 1,5 Tesla) para suprimir a gordura, que apresenta pequenos tempos de relaxação;
- Sequência de recuperação da inversão com atenuação líquida, do inglês *Fluid Attenuation Inversion Recovery* (FLAIR) – Técnica que usa longos TI (na ordem dos 2500 ms para aquisições a 1,5 Tesla) para suprimir fluidos, que apresentam tempos de relaxação superiores.

A figura 2.7 permite uma melhor compreensão na distinção destes dois tipos de sequências.

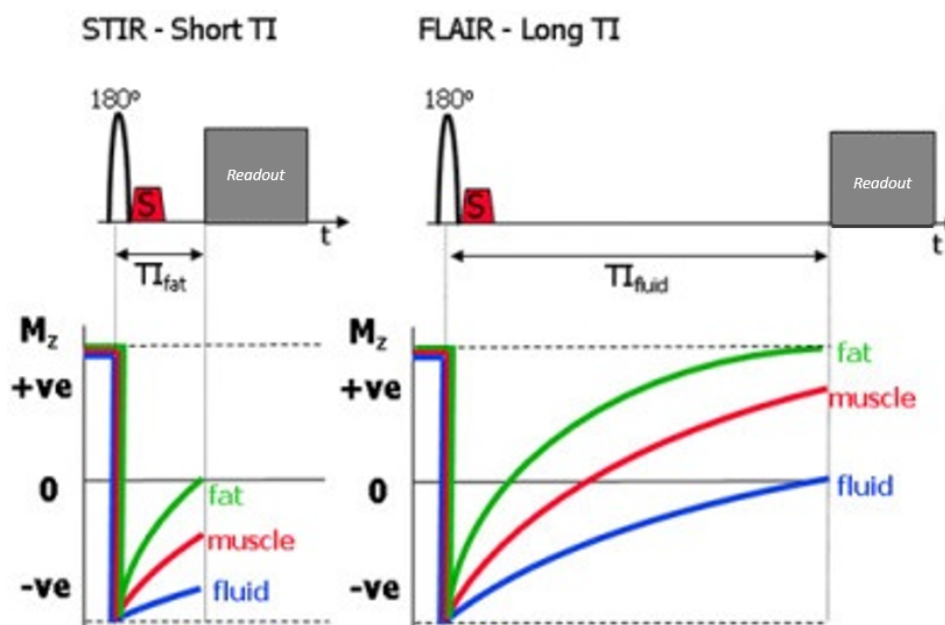


Figura 2.7: Diagrama explicativo das sequências STIR e FLAIR. Adaptado de [28]. É possível perceber que, para menores valores de TI típicos da sequência STIR, se consegue anular a componente de magnetização longitudinal da gordura (*fat*), mantendo-se as restantes componentes respeitantes ao tecido muscular e líquidos (*muscle* e *fluids*, respetivamente) com um valor de magnetização não nulo. O maior TI que se pratica na sequência FLAIR permite suprimir os fluidos ao mesmo tempo que os restantes tecidos assumem um valor de magnetização longitudinal positivo.

2.4 Acompanhamento Imagiológico da Esclerose Múltipla

A IRM constitui a ferramenta mais poderosa para diagnosticar casos precoces de EM [29], oferecendo quatro grandes aplicações no acompanhamento da EM:

- obter diagnósticos mais precoces e fiáveis;
- contribuir para a compreensão da patofisiologia da doença e a forma como estas alterações patofisiológicas se relacionam com as manifestações clínicas;
- assumir um papel fundamental na monitorização dos efeitos das terapêuticas;
- apresentar um grande potencial na identificação da resposta à terapêutica dos doentes individuais [3].

A maior prova da importância desta técnica no diagnóstico da doença é a sua incorporação no critério do Painel Internacional - o critério de *McDonald*, implementado em 2001 e com revisões em 2005 e 2010 [30]. Este estipula que, para o diagnóstico de EM, os doentes devem apresentar pelo menos dois ataques (manifestações agudas de cariz físico ou cognitivo) e uma lesão em pelo menos duas de quatro áreas específicas do SNC:

- Medula espinal;
- SB justacortical, respeitante à vizinhança do córtex cerebral;
- SB periventricular, respeitante à vizinhança dos ventrículos, sendo que as lesões mais típicas se verificam na periferia dos ventrículos laterais;
- Compartimento infratentorial – que compreende essencialmente o tronco encefálico e o cerebelo.

Sendo a deteção destas lesões possibilitada por IRM, esta modalidade de imagem médica foi assim integrada no critério mais consensual no que diz respeito ao diagnóstico desta doença.

Nesta avaliação imagiológica a carga lesional não é, no entanto, o único indicador que devemos considerar. Conta-se também com a avaliação do nível de atrofia cerebral, um indicador de grande relevância, principalmente no que diz respeito ao acompanhamento da evolução da doença. No estudo da EM contamos então com dois importantes indicadores: o nível de atrofia cerebral e a carga lesional.

2.4.1 Atrofia cerebral

Como sabemos, a EM é caracterizada por múltiplas lesões na SB. Com a sua progressão as perdas da bainha de mielina evoluem para perdas axonais, o que eventualmente se traduzirá na criação de espaços vazios. Com o tempo o encéfalo acomoda esses espaços, dando origem a uma redução do volume do parênquima encefálico. Existem diversos indicadores de avaliação do nível de atrofia cerebral. Seguidamente se apresentam aqueles a que se recorreu no âmbito da presente dissertação.

2.4.1.1 Fração do parênquima encefálico

Em imagens que permitem definir com uma fiabilidade satisfatória a fronteira entre o parênquima encefálico e o LCR, é possível calcular o nível de atrofia cerebral por meio da Fração do parênquima encefálico (FPE)² [31, 32]:

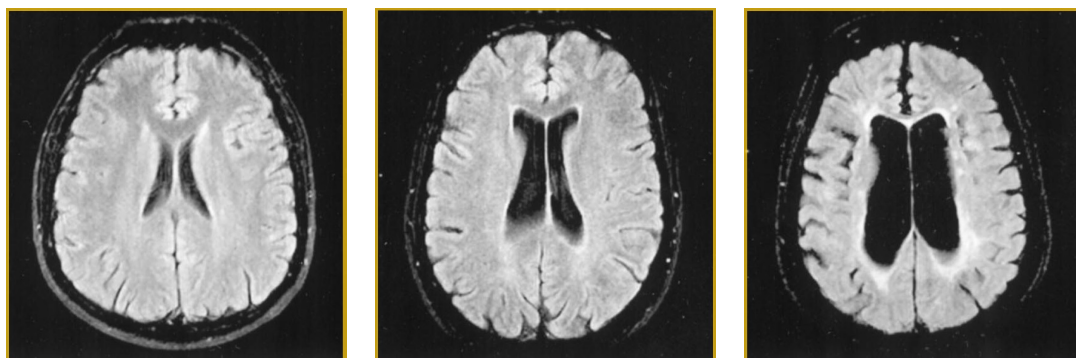
$$FPE = \frac{\text{Volume de } (SB + SC)}{\text{Volume de } (SB + SC + LCR)} \quad (2.1)$$

Como se pode perceber pela equação 2.1, esta corresponde ao quociente entre o volume ocupado pelo parênquima encefálico e o volume intracraniano total. À medida que a doença vai progredindo verifica-se uma diminuição deste quociente, facto que sugere a existência de uma correlação inversa entre este indicador e a duração de anos da doença. Este fenómeno pode ser conferido na figura 2.8, não tendo, no entanto, sido ainda muito explorado por estudos inseridos nesta área de investigação. Um dos poucos artigos encontrados data de 2013 [33], não se revelando porém bem sucedido na procura da dita correlação. No mesmo trabalho procedeu-se ainda ao estudo da influência da FPE na classificação na EDSS, tendo sido reportados resultados igualmente inconclusivos [33].

É ainda importante referir que a EM não é o único fator causador de atrofia cerebral. Além de outras doenças neurodegenerativas, também o normal envelhecimento é acompanhado por este fenómeno. Na análise de atrofia em doentes mais velhos este fator poderá ser mais influente, devendo por isso ser tido em conta. A idade é de resto um fator que influencia os valores de referência da FPE, pelo que se deverão esperar valores saudáveis diferentes para cada faixa etária.

Além de possibilitar a análise do nível de atrofia cerebral, a FPE parece apresentar um grande potencial na correlação com os dados clínicos relativos a doentes que sofrem EM, ao permitir prever padrões de evolução da doença. Este potencial não foi, no entanto, ainda devidamente explorado e deverá ser alvo de mais estudos.

²Do inglês *Brain parenchymal fraction*



(a) Homem saudável de 37 anos, FPE de 87%

(b) Mulher de 36 anos com 2 anos de EM do tipo surto-remissão, FPE de 85%

(c) Mulher de 43 anos com 19 anos de EM do tipo secundariamente Progressiva, FPE de 71%

Figura 2.8: Fração do parênquima encefálico em várias fases da doença. É possível observar um nítido aumento do volume ventricular com a progressão da doença [34]

2.4.1.2 Escala de atrofia cortical global

A Escala de Atrofia Cortical Global (EACG)³, também conhecida como escala de Pasquier, é um sistema qualitativo de classificação desenvolvido para avaliar o nível de atrofia cerebral [35]. Baseando-se em 13 regiões cerebrais, este classifica a atrofia em quatro graus:

- **Grau 0** - sem atrofia;
- **Grau 1** - alargamento dos sulcos corticais;
- **Grau 2** - alguma atrofia giral (relativa aos giros corticais);
- **Grau 3** - marcada atrofia giral.

À semelhança da FPE, também aqui o volume de LCR representa um importante fator a ter em conta na avaliação. O alargamento dos sulcos inerente ao grau 1 desta escala vem acompanhado com um ligeiro aumento das regiões ventriculares, algo que é potenciado à medida que se vai subindo no grau de classificação.

³Do inglês *Global cortical atrophy scale*

2.4.1.3 Fração de substância cinzenta

A EM é tipicamente uma doença de SB. No entanto, nos últimos anos têm surgido evidências que apontam também para a ocorrência de atrofia da SC, algo que se parece relacionar com a ocorrência de incapacidades irreversíveis e com um prognóstico de declínio cognitivo a curto e longo prazo [36, 37]. A verdade é que a SC também apresenta regiões mielinizadas, embora estas existam em muito menor proporção comparativamente com a SB. Sabe-se ainda que no envelhecimento normal esta atrofia se comporta de forma diferente relativamente à atrofia da SB – enquanto a perda de volume na SC se revela constante ao longo da vida adulta, a perda de volume na SB parece surgir a meio desta, segundo sugere um estudo realizado em 2002 [38]. Percebe-se assim que se considere importante a distinção dos diferentes tipos de atrofia. Para analisar a atrofia da SC existe um indicador semelhante à FPE, de nome Fração de Substância Cinzenta (FSC)⁴ [31]. A sua equação apresenta-se de seguida:

$$FSC = \frac{\text{Volume de SC}}{\text{Volume de (SB + SC + LCR)}} \quad (2.2)$$

2.4.2 Carga Lesional em diferentes sequências

Indicador mais tipicamente associado à EM, a carga lesional apresenta-se de forma distinta conforme as sequências de RM escolhidas, manifestando assim diferentes naturezas. Conhecendo-se as zonas de maior probabilidade de ocorrência de lesões, é possível manipular os parâmetros de aquisição da IRM por forma a maximizar o contraste entre determinadas estruturas do SNC [29]. Entre as conhecidas sequências de IRM, destacam-se as seguintes para o estudo da EM:

- Ponderação em T1 – Ideal para a distinção entre o cérebro e o LCR. Normalmente a sua visualização não permite detetar lesões, a não ser que estas apresentem um alto grau de severidade aliado à perda axonal e consequente morte celular naquela região. Nestes casos a dita zona apresentará um sinal hipointenso (baixa intensidade, cor negra), sendo por isso conhecido como *black hole*. É este fenómeno que mais tarde conduz à atrofia cerebral [39]. A figura 2.9.a ilustra o fenómeno descrito, permitindo inclusivamente identificar um *black hole*, devidamente sinalizado por uma seta vermelha.
- Ponderação em T1 com Contraste – os processos inflamatórios encefálicos estão associados ao aumento da permeabilidade da Barreira Hematoencefálica (BHE) - barreira de permeabilidade normalmente bastante baixa que permite proteger o SNC de substâncias potencialmente neurotóxicas que possam estar presentes no sangue. Com o aumento desta permeabilidade, as moléculas de Gadolínio (elemento de propriedades paramagnéticas utilizado para enaltecer o contraste das imagens)

⁴Do inglês *Grey matter parenchymal fraction*

conseguem atravessar a BHE, algo que não ocorreria numa situação normal. Na presença de inflamação são por isso visíveis sinais hiperintensos (alta intensidade, cor branca), reveladores de que o sistema imunitário está ativo na região em questão. As imagens com injeção de contraste são úteis para localizar novas lesões ativas, que noutras ponderações poderão ser indistintas de lesões inativas [29]. Na figura 2.9.b (imagem ponderada em T1 pós-contraste) podemos identificar várias hiperintensidades no sinal, reveladoras de lesões ativas.

- FLAIR com ponderação em T2 – As imagens com ponderação em T2 são bastante adequadas para identificar lesões, uma vez que estas se manifestam com um sinal hiperintenso que contrasta com o sinal hipotenso relativo à SB e SC. No entanto o mesmo não se aplica às regiões periventriculares, uma vez que o LCR apresenta um sinal hiperintenso, o que dificulta a identificação de lesões, como podemos conferir na figura 2.9.c, na qual uma maior proximidade da lesão à região ventricular se traduziria num acréscimo da dificuldade de avaliação desta. É por isso que se recorre adicionalmente à sequência FLAIR, de forma a suprimir o sinal do LCR e maximizar o contraste numa zona tipicamente propensa a lesões nesta doença. Com este tipo de imagens consegue-se assim localizar, de forma precisa, lesões desmielinizantes, algo que é possível compreender ao olhar para a figura 2.9.d, onde o LCR se distingue das mesmas precisamente pela sua hipointensidade. Recentes estudos concluíram que as imagens FLAIR 3D permitem reduzir o número de artefactos e obter uma melhor razão sinal-ruído. Este tipo de aquisição proporciona imagens volumétricas e com informação isotrópica, minimizando o efeito do volume parcial entre pequenas lesões e tecido envolvente [40].
- FLAIR com contraste – As sequências de RM mais associadas à utilização de agente contrastante são as de ponderação em T1. Apesar de as imagens FLAIR serem conhecidas como sendo ponderadas em T2 (como referido no tópico acima), a verdade é que estas também são algo influenciadas por T1, que como já vimos é responsável pelo enaltecimento de lesões ativas através da quebra de permeabilidade da BHE [41, 42]. Sendo claramente a modalidade menos utilizada das 4, esta hipótese tem sido explorada por alguns estudos, que veem na sua capacidade de suprimir os vasos sanguíneos ao mesmo tempo que enaltece lesões ativas uma potencialidade. Um deles, realizado em 2009 [41], focou-se diretamente na sua utilidade no estudo da EM, tendo reportado resultados favoráveis para aquisições imediatamente após a injeção de contraste. O estudo refere ainda especial utilidade desta modalidade para identificação de lesões na região justacortical e periventricular.

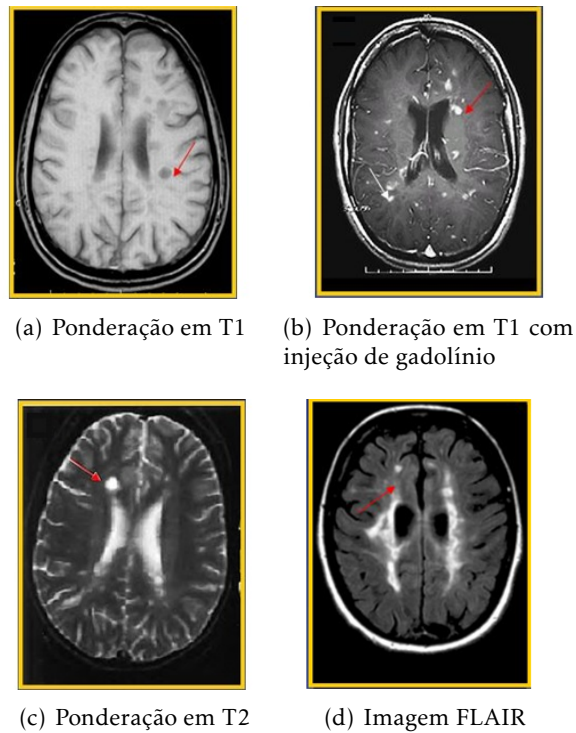


Figura 2.9: Lesões causadas por Esclerose Múltipla em várias modalidades de imagem. As imagens não dizem respeito ao mesmo doente [43]

Na avaliação imagiológica da EM utilizam-se também outras sequências, como o DP [3] ou STIR [4], as quais não foram, no entanto, utilizadas no âmbito deste estudo.

No que diz respeito à avaliação da carga lesional, existe um número considerável de indicadores de avaliação, de que são exemplo o número de lesões, o seu volume total, a morfologia e a distribuição. Na presente dissertação focamo-nos apenas nos primeiros dois, pelo facto de serem mais facilmente mensuráveis e permitirem estabelecer comparações mais objetivas.

2.5 Estado da arte de métodos de quantificação

Nos últimos 10 anos tem-se assistido a uma intensificação de esforços no desenvolvimento de métodos automáticos/semi-automáticos de detecção de lesões cerebrais para o estudo da EM, não sendo, porém, dado tanto ênfase à análise da atrofia.

2.5.1 Segmentação de lesões

Uma das primeiras ferramentas a surgir data de 2006 [44] e faz uso do algoritmo *K-nearest neighbour* [45], permitindo distinguir *black holes* e hiperintensidades relativas a lesões ativas ou não ativas. Em 2008 surgiria um outro método [46] que se baseava num algoritmo de maximização de expectativa [47] para delinear hiperintensidades em imagens FLAIR de ponderação em T2. Ao vencer o *MICCAI Multiple Sclerosis lesion segmentation challenge 2008*⁵, este demonstrava que o aumento da fiabilidade na segmentação de lesões hiperintensas em FLAIR se poderia sobrepor à necessidade de detecção de lesões de outras naturezas, como *black holes* ou lesões ativas. Seguiriam-se assim grandes progressos no desenvolvimento de métodos de detecção de hiperintensidades, entre os quais se destacam o Lesion-TOADS [48] em 2009, o LST [49] em 2011, o MSMetrix [7] em 2013 e o BOOST [50] em 2014. Apesar de recorrerem a diferentes algoritmos para cumprir o seu propósito, é possível identificar estratégias de pré-processamento comuns na estrutura das suas *pipelines*, nomeadamente:

- O registo espacial das imagens utilizadas;
- A redução do ruído e normalização de intensidades cujas discrepâncias derivam de heterogeneidades do campo magnético atuado;
- A segmentação em diferentes classes de tecido tendo em conta um conhecimento *a priori* da sua localização por meio de um atlas probabilístico.

Alguns métodos optaram por incluir ferramentas de pacotes de *software* que têm desde há cerca de 15 anos vindo a otimizar este tipo de operações, contando-se inclusivamente algumas que integram mais do que uma destas operações. É portanto comum encontrar referências à ferramenta de segmentação do SPM [51], de extração de tecido não cerebral do FSL [52], de registo de imagem e remoção de ruído por parte do ITK⁶, entre outras.

Em relação à modalidade de imagem a que cada um destes métodos recorre, destacam-se as sequências de ponderação em T1 com ou sem contraste, ponderação em T2, FLAIR ponderado em T2 e ainda DP. Enquanto alguns métodos se restringem apenas a uma sequência, outros chegam a tirar partido de três, com o argumento de que a informação de cada uma destas é complementar e permite enriquecer a caracterização da carga lesional.

⁵Traduzido para português como desafio de segmentação de lesões de Esclerose Múltipla de 2008, foi uma competição na qual se compararam diferentes algoritmos de segmentação de lesões de EM a partir de IRM cerebrais

⁶<https://itk.org/>

Um maior número de sequências reflete-se no entanto num maior tempo de aquisição, algo que pode provocar desconforto para o doente e consequentemente traduzir-se na redução de qualidade de imagem.

Desde a publicação do seu artigo em 2011, o pacote de ferramentas LST tem sido alvo de várias comparações [7, 53] e propostas de melhoria [50] por parte dos artigos referentes às ferramentas entretanto desenvolvidas. Um deles [7], relativo à ferramenta MSMetrix, chegou mesmo a referir que esta obteve melhores valores de correlação com a referência (lesões manualmente delineadas por especialistas), superando a proposta do dito artigo e ainda a ferramenta Lesion-TOADS.

Apesar de quase todos os estudos apresentarem um desempenho relativamente satisfatório independentemente da abordagem utilizada, os resultados obtidos são ainda algo restritos às respetivas amostras. Tal faz com que se corra o risco de estes métodos poderem não ser tão eficazes com lesões de natureza diferente da que se está à espera, ou com diferentes sequências imagiológicas adotadas. Na EM esta é uma realidade a ter em conta, dada a multiplicidade de locais e formas em que estas lesões podem surgir, o que faz também com que haja uma multiplicidade de sequências de RM para as estudar. Fatores como as diferenças das unidades de aquisição de IRM, da anatomia dos doentes e da leitura de valores por diferentes especialistas podem também levar a uma redução na acuidade destes algoritmos.

2.5.2 Análise de Atrofia

Como já foi referido, a análise de atrofia cerebral não tem sido alvo de tanto protagonismo nos métodos de estudo da EM. Porém, praticamente todas as ferramentas mencionadas compreendem na sua *pipeline* métodos de segmentação do tecido cerebral, classificando-o em SB, SC e LCR. Apenas o MSMetrix tira partido desta informação para tirar ilações acerca da volumetria dos tecidos e respetivo nível de atrofia, da forma que será descrita na secção 3.4.5. A normalização de estruturas cerebrais que este método propõe permite uma boa análise ao nível de atrofia cerebral. Este não é, no entanto, o único método de avaliação de atrofia, constituindo também a FPE um indicador bastante fiável para o propósito em questão [34].

Um estudo de 2009 [54] avaliou três métodos que considerou serem os mais utilizados na medição dos volumes das principais estruturas cerebrais. Estes pertenciam aos pacotes de software FSL⁷, SPM5⁸ e FreeSurfer⁹, relatando resultados bastante satisfatórios.

A dificuldade na estimativa dos ditos volumes que por vezes se registou deve-se principalmente à falta de qualidade de algumas imagens. Outra das dificuldades prende-se com a existência de lesões associadas a doenças neurodegenerativas, categoria na qual a EM se insere. Se os *voxels* relativos a lesões forem classificados como sendo saudáveis, a quantificação dos tecidos vai obviamente produzir resultados incorretos. No sentido de corrigir estes erros, têm sido estudadas formas de preenchimento de lesões numa fase anterior à atuação dos algoritmos de segmentação, de maneira a que os seus *voxels* sejam devidamente diferenciados e excluídos de cálculos posteriores [55].

⁷<http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/FSL>

⁸<http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/>

⁹<https://surfer.nmr.mgh.harvard.edu/>

MATERIAIS E MÉTODOS

É realizada uma breve caracterização do trabalho desenvolvido, seguida de uma descrição da amostra, unidade de aquisição, protocolos e parâmetros imagiológicos adotados. Expõem-se as ferramentas utilizadas, bem como o respetivo papel que estas assumiram no desenrolar do estudo.

3.1 Trabalho Desenvolvido

O desenvolvimento do projeto conheceu três vertentes, orientadas segundo cada um dos objetivos descritos na secção 1.2.

Para a introdução de métodos quantitativos automáticos dos indicadores relacionados com o prognóstico da Esclerose Múltipla (EM) optou-se pela construção de uma *pipeline*, ou seja, a aplicação sequencial de algoritmos de processamento de imagem já desenvolvidos, cujos códigos se encontram disponíveis para trabalhos desta natureza. A construção desta foi concretizada através do desenvolvimento de um *script* na linguagem de comandos *bash*, partilhada pelos sistemas operativos OS X e Linux. Grande parte do desenvolvimento desta ferramenta foi assim efetuada no sistema operativo Linux com a distribuição CentOS 6.5 (Red Hat Inc., Carolina do Norte, Estados Unidos da América).

A adaptação do protocolo imagiológico seguiu-se à construção da *pipeline*, baseando-se num estudo estatístico dos valores resultantes da análise de quatro pares de sequências imagiológicas diferentes para cada caso.

A investigação acerca da possível existência de correlações entre os dados obtidos e as manifestações clínicas realizou-se numa fase final, após se acreditar que os indicadores reunidos poderiam possibilitar uma análise potencialmente interessante no âmbito do estudo da doença.

3.2 Amostra

Para o propósito do estudo foram analisados um total de 20 sujeitos com idades compreendidas entre os 19 e os 66 anos. Destes, 19 cumprem os critérios de inclusão inicialmente estipulados:

- Diagnóstico prévio de EM;
- Acompanhamento no Hospital Egas Moniz (HEM);
- Exames de Ressonância Magnética (RM) realizados no HEM.

Dos 19 doentes regista-se um caso com EM do tipo Secundariamente Progressiva, um outro do tipo Primariamente Progressiva, tendo os restantes 17 sido diagnosticados com Surto-Remissão. Não se observou em nenhum destes casos a existência de lesões ativas.

O único sujeito que não se insere neste grupo não cumpre o critério de diagnóstico de EM, correspondendo a uma síndrome clínica isolada, ou seja, à presença de sintomas neurológicos que podem ou não estar relacionados com desmielinização no Sistema Nervoso Central (SNC). Neste caso específico não se verificou a presença de qualquer lesão nem de atrofia cerebral, tendo-se optado ainda assim pela sua inclusão no estudo por se acreditar que seria interessante contar com um sujeito de controlo.

A seleção de casos realizou-se de forma consecutiva, de forma a evitar enviesamento nos resultados e permitir que a amostra refletisse tanto quanto possível as características clínicas observadas na prática clínica real.

Os registos foram anonimizados, atribuindo-se a cada sujeito, no momento da inclusão no estudo, um código único com o formato geral Quant-EM.yy em que “.yy” corresponde ao seu número sequencial de entrada no estudo. Toda a informação demográfica recolhida, bem como os dados da avaliação clínica e das imagens de RM, foram codificados da mesma forma.

O estudo foi realizado de acordo com a declaração de Helsínquia de 1975 e aprovado pela Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, onde o HEM se insere, tendo sido emitido um parecer favorável para a obtenção das imagens utilizadas (este pode ser consultado em apêndice, na imagem D.1).

3.3 Local, unidade de aquisição e protocolos

O estudo teve lugar no Serviço de Neurorradiologia do HEM, onde os dados foram fornecidos, e no Instituto de Biofísica e Engenharia Biomédica (IBEB), onde se procedeu ao seu processamento e ao desenvolvimento da *pipeline*.

Baseou-se em exames de Imagem por Ressonância Magnética (IRM) de controlo realizados por rotina no decorrer da doença, que inclui no protocolo base sequências T1 3D com contraste (T1c) e FLAIR *Cube* sem contraste (FLAIRs). As designações de 3D e *Cube* referem-se à natureza volumétrica de ambas. As imagens foram adquiridas por uma unidade de aquisição de modelo Signa HDxt de 1,5 Tesla (GE Healthcare, Little Chalfont, Reino Unido).

Com o início do presente estudo surgiu a questão de qual o protocolo imagiológico que melhor se adequaria à ferramenta a desenvolver. Desde logo o facto de grande parte das ferramentas de segmentação estudadas requererem imagens de sequências volumétricas FLAIR e T1, ambas sem contraste, alertou-nos para a necessidade de testarmos hipóteses imagiológicas diferentes da que o protocolo então vigente nos propunha. As sequências de ponderação em T1 sem contraste são frequentemente utilizadas para este tipo de ferramentas pelo facto de permitirem uma melhor segmentação das estruturas encefálicas, e assim possibilitarem um melhor estudo da atrofia cerebral e de SC [51].

Outro dos motivos prende-se com a eficiência do próprio exame. Tipicamente, para uma sequência de ponderação em T1 que faz uso de gadolínio, existe algum tempo de espera entre o momento de injeção do contraste e a aquisição de imagem. Neste sentido, e tendo em conta o estudo referido na secção 2.4.2 [41] que reporta resultados interessantes na utilização da sequência FLAIR com contraste imediatamente após a injeção do dito agente, recorrer a esta sequência seria particularmente interessante ao permitir uma redução no tempo total do exame ao mesmo tempo que introduz uma complementaridade na caracterização da carga lesional.

Foram assim introduzidas duas novas sequências: T1 3D sem contraste (T1s) e FLAIR *Cube* com contraste (FLAIRc). Os seus parâmetros de aquisição eram os mesmos das sequências já em vigor, que de resto divergiam apenas na utilização ou não de agente contrastante. A introdução da sequência T1 3D sem contraste no protocolo imagiológico levou no entanto a um inconveniente aumento da duração do exame.

No decurso do estudo foi verificada a existência de algum ruído nas imagens T1 3D adquiridas, o que se poderia refletir em alguns erros aquando da fase de segmentação automática. Optou-se assim por uma pequena alteração nos parâmetros imagiológicos desta sequência, que levou ao aumento das dimensões do *voxel*. Desta forma, apesar de ser perdida alguma resolução espacial, conseguiu-se um acréscimo da razão sinal-ruído que conseqüentemente se traduz na diminuição da influência de artefactos na imagem. As diferenças podem ser consultadas em apêndice, onde se disponibiliza uma imagem de ponderação em T1 3D relativa a um sujeito do grupo 2 (D.2), e outra da mesma natureza que diz respeito a um sujeito inserido no grupo 3 (D.3).

No que diz respeito à natureza de protocolos de imagem adotados podemos assim classificar os casos analisados em três grupos:

- **Grupo 1** - Composto por 7 sujeitos com exames realizados previamente ao início do estudo, o que se traduz num protocolo com duas sequências imagiológicas, FLAIRs e T1c;
- **Grupo 2** - Formado por 9 sujeitos, cujo protocolo inclui as modalidades de imagem FLAIRc e T1s para além das outras duas referentes ao primeiro protocolo, sendo os parâmetros imagiológicos mantidos;
- **Grupo 3** - Compreende 4 sujeitos com as mesmas 4 sequências do segundo protocolo, sendo que os parâmetros imagiológicos relativos à sequência T1 3D são diferentes dos relativos aos dois protocolos anteriores.

Os parâmetros imagiológicos das sequências adotadas foram devidamente registados, apresentando-se de seguida na tabela 3.1:

Tabela 3.1: Parâmetros imagiológicos das sequências adotadas

Sequência	TE	TR	TI	<i>PixelSpacing</i>	<i>SliceThickness</i>
T1 3D	3-5ms	8-11ms	450ms	Variável ¹	Variável ²
FLAIR <i>Cube</i>	125-135ms	6000ms	1840-1870ms	0,5x0,5mm ²	1,8mm

¹0,5x0,5mm² para os grupos 1 e 2, 1x1mm² para o grupo 3

²0,8mm para os grupos 1 e 2, 1mm para o grupo 3

3.4 Ferramentas Utilizadas

A concretização do presente projeto foi possibilitada pela atuação de algumas importantes ferramentas. Seguidamente se apresenta uma breve descrição de cada uma delas, bem como a explicação do papel que estas assumiram no desenrolar do trabalho.

3.4.1 OsiriX

O OsiriX (v. Lite 7.5.1, Pixmeo SARL, Genebra, Suíça)[56] é uma aplicação de visualização e processamento de imagem, tendo sido desenvolvida sob a plataforma Macintosh no sistema operativo OS X (Apple Inc., Cupertino, Estados Unidos da América), onde ainda funciona atualmente e tendo inclusivamente conhecido uma versão para *smartphone* (sistema operativo iOS). Assume-se como o mais amplamente utilizado visualizador de imagens de formato *Digital Imaging and Communications in Medicine* (DICOM), formato mais padronizado no meio médico. Tal facto pode ser justificado pela utilização intuitiva e simplicidade da sua interface, mas principalmente pela boa compatibilidade que apresenta perante grande parte dos sistemas de arquivo e comunicação de imagem médica. Este *software* apresenta ainda a vantagem de permitir o desenvolvimento e instalação de *plugins*, ferramentas que se acrescentam às já existentes no processamento e análise das imagens, contribuindo para um maior aproveitamento da informação contida nas mesmas.

Foi neste contexto que surgiu a oportunidade de desenvolvimento da ferramenta de quantificação automática. Sendo um *software* já conhecido pelo corpo clínico do HEM e contando com uma plataforma de desenvolvimento de *plugins* bem estabelecida, o OsiriX tornou-se assim na escolha mais natural para o propósito em questão.

3.4.2 Xcode

Criada pela Apple Inc., esta constitui uma aplicação de desenvolvimento de *software* para a plataforma Macintosh, que neste momento inclui sistemas operativos de computadores (OS X), *smartphones* (iOS), televisão digital (tvOS) e até *smartwatches* (watchOS). Pertencendo o OsiriX a esta família de *software*, a criação dos seus *plugins* tem lugar com esta aplicação.

Recorreu-se assim a um código base gerado especificamente para o desenvolvimento de *plugins* OsiriX e que se encontra disponibilizado ao público [57]. Através do Xcode 5.0.1 foram trabalhados os aspectos que se prendem com a interação entre o utilizador e a ferramenta, possibilitada através de uma interface. A programação foi realizada numa linguagem orientada a objetos designada de *Objective-C*, no sistema operativo OS X 10.9.5.

3.4.3 MATLAB

Conhecida plataforma de *software* matemático com uma vasta biblioteca de ferramentas das mais variadas naturezas, o MATLAB® (R2010B, MathWorks, Massachusetts, Estados Unidos da América) foi bastante importante no desenvolvimento da ferramenta de quantificação automática. Seguidamente se apresenta uma breve descrição de cada uma das ferramentas utilizadas.

3.4.3.1 Ferramentas NIfTI

A maior parte dos *softwares* de processamento de IRM cerebral requer imagens em formato *Neuroimaging Informatics Technology Initiative* (NIfTI), que permite o armazenamento de matrizes que codificam o resultado de realinhamentos, registos e normalizações.

Encontrando-se as imagens provenientes do HEM em formato DICOM, recorreu-se primeiramente a uma ferramenta de nome *DICOM to NIfTI converter*³ [58]. Esta permitiu assim uma preparação do formato das imagens para a fase de processamento que se seguiria.

Foi ainda utilizada uma outra ferramenta de nome *Tools for NIfTI and ANALYZE image*⁴ [59], integrada na *pipeline* de forma a possibilitar o acesso à informação contida nos cabeçalhos das imagens.

3.4.3.2 SPM

O pacote de *software* SPM foi desenvolvido para a análise de dados de sequências de imagens cerebrais, baseando-se no modelo de mapeamento estatístico paramétrico, em inglês *Statistical Parametric Mapping* [60], que se serve de processos estatísticos de forma a testar hipóteses na área da imagiologia funcional. É ainda assim possível recorrer a esta ferramenta para o processamento de imagens de RM estrutural. O pacote de *software* SPM12 [61] foi utilizado para dois propósitos no âmbito do desenvolvimento da *pipeline*.

Um primeiro para o estudo da volumetria cerebral, onde se recorreu a duas ferramentas: uma de registo espacial de nome *Coregister(Estimate&Reslice)*, que permite calcular e efetuar transformações afins a uma imagem tendo em conta outra imagem de referência de forma a que estas coincidam espacialmente, baseando-se para isso num modelo proposto por Collignon *et al* [62]. A segunda ferramenta designa-se *Segment* [51] e permite a segmentação das imagens de RM cerebral em diferentes tipos de tecido (SB, SC e LCR), criando um ficheiro NIfTI para cada um.

Recorreu-se ainda à *Lesion Segmentation Tool* [49], traduzida do inglês como ferramenta de segmentação de lesões e frequentemente referida pela sigla LST. Esta é uma caixa de ferramentas desenvolvida para o SPM com o intuito de segmentar lesões hiperintensas em imagens FLAIR. Inicialmente pensada para o estudo da EM, tem-se também

³Traduzido para português como Conversor de DICOM para NIfTI

⁴Traduzido para português como Ferramentas para imagens NIfTI e ANALYZE

revelado bastante útil no estudo de outras doenças cujas manifestações incluem este tipo de lesões. Foi assim integrado na *pipeline* o algoritmo *Lesion Growth Algorithm* (LGA), que, partindo de imagens FLAIR e T1, permite gerar um relatório em formato *HyperText Markup Language* (HTML) contendo o número de lesões detetadas e o volume de carga lesional medido.

3.4.4 FSL

O FSL [63] é uma extensa biblioteca de ferramentas de análise de dados de imagem de RM estrutural, funcional e de difusão, tendo sido criada na Universidade de Oxford, no Reino Unido.

A sua utilização realizou-se no âmbito do estudo da quantificação da atrofia de cada caso, tendo-se recorrido a 5 ferramentas:

- *fslreorient2std*, um comando pertencente ao pacote de utilidades do FSL e que permite reorientar a imagem de forma a que esta corresponda ao formato standard (MNI152), não possibilitando no entanto o registo espacial de imagens;
- *FMRIB's Image Registration Tool* (FLIRT) [64, 65], uma ferramenta que possibilita o registo linear, intra e inter-modal de imagens cerebrais;
- *Brain Extraction Tool* (BET) [52], uma ferramenta que permite a remoção do tecido não encefálico das imagens;
- *FMRIB's Automated Segmentation Tool* (FAST)[66], uma ferramenta de segmentação de imagens cerebrais 3D em diferentes tipos de tecidos, produzindo um ficheiro NIfTI para cada um destes;
- *fslstats*, outro comando pertencente ao pacote de utilidades do FSL e que permite calcular indicadores estatísticos relativos a imagens 3D ou 4D.

3.4.5 MSMetrix

O MSMetrix [7, 36, 67] é uma ferramenta imagiológica desenvolvida pela empresa Icometrix, sediada em Leuven, Bélgica. Foi criada com o intuito de detetar lesões cerebrais, calcular o seu volume e permitir a medição do nível de atrofia cerebral e de SC. Contando já com certificações na União Europeia, Canadá, Brasil e Austrália, esta constitui hoje uma ferramenta bastante fiável no que diz respeito à análise de casos de EM. Tem-se ainda revelado bastante importante em ensaios clínicos e estudos de investigação acerca de outras perturbações neurológicas, tais como lesões cerebrais traumáticas, epilepsia, doença de Alzheimer e acidentes vasculares cerebrais.

O MSMetrix tira partido de sequências volumétricas T1 e FLAIR, usando-as num modelo probabilístico que permite segmentar o tecido cerebral em SB, SC e LCR e obter um mapa de valores de intensidade discrepantes (hiperintensidades neste caso) do restante

tecido cerebral. Neste mapa são depois distinguidas as regiões com maior probabilidade de corresponderem a lesões, com base num estudo prévio da sua possível localização na SB [36]. Estas lesões são ainda categorizadas como hiperintensidades em FLAIR ou como hiperintensidades resultantes da atuação do gadolínio em T1 (as diferenças entre estes dois tipos de lesões são explicadas na secção 2.4.2, capítulo 2). O MSMetrix realiza também uma normalização dos volumes dos tecidos encefálicos segmentados, permitindo a análise do seu estado de atrofia através do enquadramento dos volumes normalizados de SC e parênquima encefálico num gráfico contendo os valores de volume de referência de acordo com a idade.

Todos os resultados são depois exibidos num relatório, cujo modelo pode ser consultado na figura A.2, disponibilizada na secção dos apêndices. Neste podemos distinguir um espaço para observações, outro para o resultado visual das segmentações, outro para a análise volumétrica e um último para a análise de carga lesional.

No âmbito do presente estudo foi possível utilizar esta ferramenta na determinação da volumetria dos tecidos encefálicos e carga lesional de cada caso. O MSMetrix permitiu assim estabelecer os valores de referência para os parâmetros em análise.

3.4.6 Programa R

O programa R (The R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria) [68] é um ambiente de *software* livre de análise estatística, possibilitando uma grande variedade de testes e tratamentos gráficos.

Para este projecto foi utilizada a versão 3.1.3, tendo-se recorrido a métodos de análise não paramétrica pelo facto de a amostra ser reduzida (a amostra é composta por um máximo de 20 sujeitos, um método de análise paramétrica iria requerer uma amostra com pelo menos 30 sujeitos). De seguida se apresenta uma breve explicação de cada um dos métodos/testes a que se recorreu:

- **Teste de Friedman** - Este permite testar se um grupo de k amostras emparelhadas provêm ou não da mesma distribuição. No caso negativo, um parâmetro indicativo designado de *valor p* assumirá um valor menor ou igual a 0,05 (5%), revelando-se significativo. Contrariamente, um *valor p* não significativo (ou seja, superior a 5%) deverá traduzir que as k amostras apresentarão efetivamente a mesma distribuição [69];
- **Teste de Kruskal-Wallis** - Teste bastante semelhante ao teste de Friedman, do qual difere em apenas um aspeto: as k amostras a serem comparadas não são emparelhadas entre si, mas antes independentes [70];
- **Teste de Mann-Whitney** - Teste semelhante ao de Kruskal-Wallis, restringindo-se apenas a duas amostras. Mais uma vez aqui, se o *valor p* for significativo (inferior a 0,05), as duas amostras não apresentarão a mesma distribuição [71];

- **Teste *post hoc* de Bonferroni** - No caso do *valor p* resultante do Teste de Friedman ou de Kruskal-Wallis ser significativo, deverá interpretar-se que das k amostras haverá pelo menos duas que não apresentarão a mesma distribuição. Para analisar como estas realmente variam entre si deverá recorrer-se a este teste, que produzirá um *valor p* para cada par de métodos. Um *valor p* inferior a 5% significará que as duas amostras comparadas não apresentam a mesma distribuição [72]. Este teste inclui correção para comparações múltiplas, de modo a reduzir a taxa de falsos positivos;
- **Coefficiente de Correlação Intraclasse (CCI)**⁵ - Este é um indicador estatístico que permite avaliar a fiabilidade de métodos de medição. O seu valor representa a concordância entre dois ou mais métodos usados para avaliar o mesmo grupo de sujeitos e varia entre 1 e 0, representando o valor unitário uma concordância perfeita e o valor nulo a ausência de correlação. Existem diferentes tipos de CCI, dependendo da análise que foi levada a cabo. No presente estudo foi utilizado o caso ICC[3,1]⁶, que avalia a concordância entre observadores em que cada sujeito foi avaliado uma vez por cada observador, sendo estes os únicos julgamentos de interesse [74];
- **Método de Bland-Altman** - Método gráfico que permite complementar a avaliação de concordância entre instrumentos de medição já possibilitada pelo CCI, limitando-se, no entanto, a uma comparação entre duas medições (ao contrário do CCI, que permite a comparação de mais de dois métodos de medição). Consiste na representação da média das duas medições no eixo das abcissas e da diferença das mesmas no eixo das ordenadas, o que possibilita a obtenção do valor médio das diferenças entre os dois métodos, de nome viés, bem como o intervalo relativo à dispersão da amostra [75];
- **Teste de Spearman** - Teste estatístico que permite aferir o grau de correlação entre duas amostras emparelhadas. Este grau é medido pelo Coeficiente de Correlação Ró de Spearman (ρ), cujos valores variam entre 1 (correlação direta perfeita) e -1 (correlação inversa perfeita). Este teste faz ainda uso de um *valor p*, correspondendo um valor significativo (inferior a 0,05) à validação da existência de correlação entre as duas amostras em comparação [76].

⁵Do inglês *Intraclass correlation coefficient*, ou ICC

⁶Classificação proposta por Shrout e Fleiss em 1979. O primeiro índice diz respeito ao modelo da análise, enquanto que o segundo se refere ao número de medições efetuadas [73]

DESENVOLVIMENTO DA *Pipeline*

É realizada uma caracterização do trabalho efetuado no âmbito do desenvolvimento da *pipeline*. Este pode ser repartido em três grandes fases. Uma primeira de desenvolvimento da análise volumétrica, outra da carga lesional e uma última para o encadeamento dos métodos escolhidos no ambiente gráfico da aplicação OsiriX, onde a ferramenta atua em última instância. As duas primeiras fases incluem, cada uma delas, a escolha das ferramentas a ser integradas, testes de otimização e desenvolvimento de *scripts*. Por fim, é apresentada uma discussão acerca do trabalho efetuado.

4.1 Análise Volumétrica

Sendo o primeiro passo na ordem de trabalhos no âmbito do desenvolvimento da *pipeline*, a análise volumétrica não incluiu na verdade apenas uma pesquisa de ferramentas desse índole, tendo também permitido a definição da estrutura principal do método a desenvolver. Para o cálculo de volume das estruturas encefálicas ocorrer, outros passos de pré-processamento teriam obrigatoriamente de ser dados, entre os quais:

- A conversão do formato das imagens de DICOM para NIfTI;
- O registo espacial das imagens utilizadas;
- A segmentação das imagens em diferentes tecidos.

Para a primeira operação mencionada foi utilizada a ferramenta *DICOM to NIfTI converter*, já mencionada na secção 3.4.3.1.

No que diz respeito ao registo espacial das imagens e à segmentação das estruturas encefálicas recorreu-se a dois pacotes de *software*, o FSL e o SPM, tendo sido desenvolvido

um *script* de análise para cada um deles. Em cada *script* foi incluído um método de medição dos volumes segmentados, sendo os resultados expostos em mililitros (ml).

Já numa fase de pós-processamento, foram escolhidas a FPE e a FSC como indicadores do nível de atrofia cerebral e de SC, respetivamente. Tendo isto em conta, foi ainda integrada a aplicação dos cálculos relativos às equações 2.1 e 2.2 numa fase posterior à quantificação da SB, SC e LCR, bem como o registo de resultados num ficheiro *.txt*. Esta última fase da *pipeline* volumétrica foi executada através do MATLAB, sendo comum aos dois *scripts*.

4.1.1 Desenvolvimento do *script* FSL

O FSL foi o primeiro pacote de *software* a ser explorado. Após uma análise da sua biblioteca, decidiu-se optar pela utilização das ferramentas *fslreorient2std*, FLIRT, BET, FAST e *fslstats*, cujas funções são de resto descritas na secção 3.4.4. Este pacote de *software* apresenta a vantagem de permitir a aplicação dos seus métodos através da linha de comandos, disponibilizando inclusivamente tutoriais para tal modalidade de utilização. Seguiu-se um período de otimização das ditas ferramentas para o propósito referido.

4.1.1.1 Otimização de ferramentas

O BET foi a primeira ferramenta a ser alvo de estudo. Este instrumento de extração de tecido não encefálico apresenta o seguinte formato de aplicação a partir da linha de comandos:

$$bet <input> <output> [options]$$

Correspondendo o termo *input* ao nome da imagem a ser atuada pelo algoritmo, *output* ao nome da imagem segmentada e *options* às opções seleccionadas. Para o presente estudo considerou-se relevante a avaliação das seguintes opções:

- **-f** - corresponde ao limiar fraccional de intensidade, assumindo valores ente 0 e 1, sendo que os valores mais baixos resultam em estimativas de maiores dimensões relativamente ao tecido encefálico;
- **-B** - promove a remoção de valores discrepantes de intensidade da imagem derivados da existência de ruído e heterogeneidades do campo magnético;
- **-R** - faz uma estimativa das coordenadas espaciais referentes ao centro do encéfalo de forma a tentar melhorar a segmentação realizada pelo BET.

A utilidade de cada uma destas opções foi testada para cada uma das quatro sequências imagiológicas em estudo. A título de curiosidade, a figura 4.1 apresenta alguns dos testes realizados para a sequência FLAIRs, permitindo oferecer uma perspetiva mais visual acerca do processo de escolha de parâmetros.

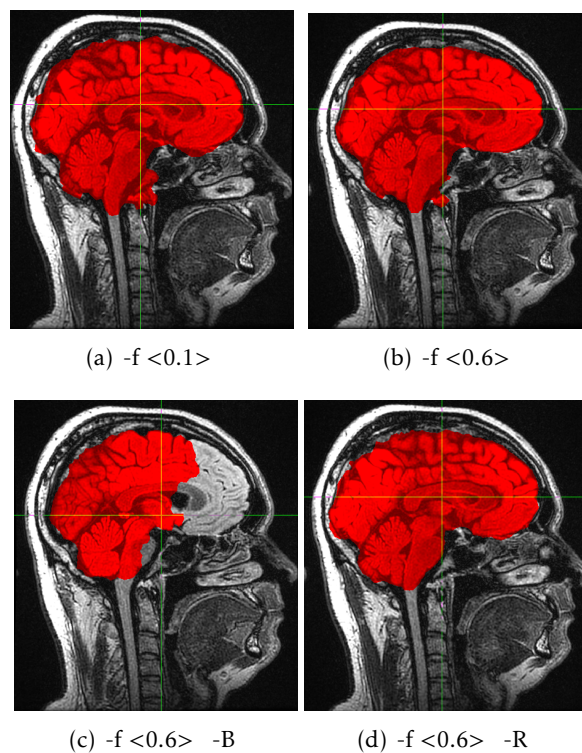


Figura 4.1: Estudo das opções mais adequadas para a aplicação do BET na sequência FLAIRs. É possível perceber a maior adequação na estimativa do volume encefálico por parte na imagem (d), nas quais se opta por um valor de f de 0.6 e pela opção -R

A tabela 4.1 apresenta as opções escolhidas na utilização do BET em cada uma das sequências de imagem.

Tabela 4.1: Opções escolhidas para a ferramenta BET

Sequência	opção -f	opção -B	opção -R
T1c	0.3	✓	✗
T1s	0.1	✗	✗
FLAIRc	0.6	✗	✓
FLAIRs	0.6	✗	✓

A ferramenta FLIRT foi a segunda a ser testada. A sua aplicação na cadeia de comandos apresenta o seguinte aspeto:

$$flirt [options] -in <invol> -ref <refvol> -out <outvol>$$

Em que o termo *options* diz respeito às opções da ferramenta, *invol* se refere à imagem a ser registada, *refvol* à imagem de referência e *outvol* ao nome dado à que sofreu o registo espacial.

Dado o facto do campo das opções ser facultativo, este algoritmo foi testado sem o seu recurso, tendo-se optado por só o utilizar no caso dos resultados não corresponderem aos pretendidos. Foi utilizada como referência a imagem FLAIRs, tendo-se realizado um registo das imagens relativas às outras três sequências. O facto das imagens FLAIR anularem o LCR pesou na decisão de as escolher como referência em detrimento das ponderadas em T1, uma vez que as fronteiras relativas ao parênquima cerebral se mostram melhor definidas e permitem estabelecer pontos mais fiáveis para a operação em questão. Os resultados revelaram-se bastante positivos, ficando as imagens registadas prontas a ser integradas pela ferramenta FAST. Não foram assim testadas mais alternativas na ferramenta FLIRT.

A aplicação da ferramenta FAST na linha de comandos apresenta o seguinte formato:

$$fast [options] -n <nrclasses> -S <nrchannels> <file(s)>$$

Referindo-se o termo *options* a outras opções facultativas, *nrclasses* ao número de classes a ser distinguidas, *nrchannels* ao número de imagens em que o algoritmo se baseia e *file(s)* à(s) dita(s) imagem(ns). Foi assim nesta fase que primeiramente nos deparamos com a necessidade de responder a duas importantes questões:

- Quantas classes de tecido devem ser distinguidas?
- Quantas sequências devem ser incluídas?

Apesar de se poder pensar que a resposta mais óbvia à primeira questão ser as três classes referentes à SB, SC e LCR, o facto de contarmos com algumas hiperintensidades em FLAIR poderia justificar a introdução de uma nova classe. No entanto esta hipótese foi rapidamente refutada após um primeiro teste, uma vez que os resultados mostravam uma segmentação incorreta da SB em vez do desejado delineamento de lesões. Assim, decidiu-se optar pela segmentação em três classes.

Para a segunda questão pensou-se na hipótese de aliar uma das imagens FLAIR (com ou sem contraste) às duas sequências T1 em simultâneo. Porém, a pesquisa bibliográfica levou-nos a optar por apenas um par de duas sequências volumétricas. O próprio *software* MSMetrix, por exemplo, apenas aceita dois possíveis pares de sequência: FLAIRs com T1c ou FLAIRs com T1s. Este argumenta que para uma melhor distinção dos volumes encefálicos se deve usar a primeira opção, enquanto que para a deteção de lesões ativas se deve

escolher a segunda [7]. O facto de as lesões em T1 com contraste também constituírem hiperintensidades leva a que não se tenha de levar a cabo uma alteração substancial no algoritmo de deteção de lesões. Além disso, um algoritmo que não requeira um protocolo tão restrito apresentar-se-á mais versátil. Tendo isto em conta, optou-se pela segmentação com base em duas sequências: uma FLAIR e outra ponderada em T1.

As ferramentas respeitantes ao pacote de utilidades do FSL, *fslreorient2std* e *fslstats*, foram introduzidas numa fase final da construção do *script* e com objetivos distintos. A primeira foi aplicada a cada uma das imagens depois da sua conversão para formato NIfTI, incluindo as imagens relativas às sequências FLAIR que são tidas como referência aquando da atuação do FLIRT. Um registo prévio destas imagens com o modelo MNI152 revelou resultados mais fiáveis na atuação do algoritmo BET. O *fslstats* revelou-se bastante útil ao permitir o cálculo do volume das estruturas encefálicas segmentadas pelo FAST.

4.1.1.2 Encadeamento de ferramentas

Uma vez otimizadas as ferramentas para a análise volumétrica das sequências em análise, procedeu-se ao encadeamento das mesmas.

A ordenação pareceu ao início bastante consensual: primeiro a conversão do formato das imagens de DICOM para NIfTI, depois a reorientação espacial destas com o atlas MNI152 a partir do *fslreorient2std*. Seguiu-se a remoção do tecido não encefálico com o BET, o registo espacial de imagens com o FLIRT, a segmentação de tecidos com o FAST, o cálculo de volumes a partir do *fslstats* e finalmente a determinação da FPE e FSC seguida do registo de resultados num ficheiro *.txt*, recorrendo a funções do MATLAB.

Porém, a atuação deste *script* acusou alguns problemas na segmentação de estruturas encefálicas em certos casos analisados. O problema, viria a detetar-se, não dizia respeito à atuação do programa FAST mas antes à da ferramenta que o antecedia, o FLIRT. Este realizava um registo espacial erróneo das imagens ponderadas em T1. Para a resolução deste problema optou-se por uma pequena reordenação na sequência dos métodos, trocando-se o BET pelo FLIRT. Desta forma o registo espacial poderia basear-se em mais pontos de referência, o que diminuiria a probabilidade de ocorrência de erros. Esta estratégia revelou-se bem-sucedida, ao eliminar por completo as más segmentações dos casos que as apresentavam.

O esquema da figura 4.2 permite ilustrar a estrutura do *script* desenvolvido, possibilitando uma melhor compreensão acerca do recurso às sequências imagiológicas.

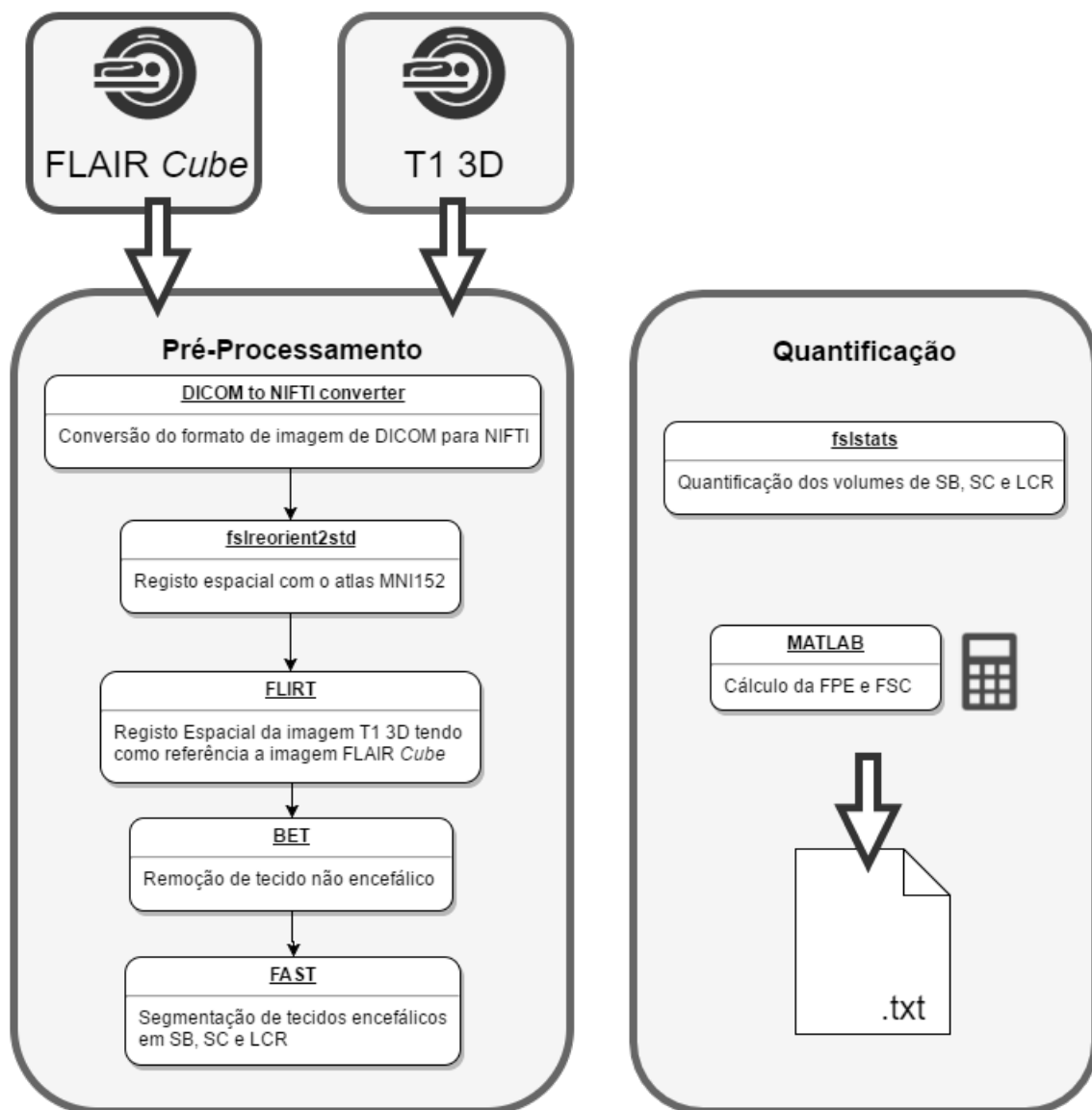


Figura 4.2: Esquema da análise volumétrica FSL

4.1.2 Desenvolvimento do *script* SPM

O desenvolvimento do *script* do FSL exigiu que as principais decisões no âmbito da estruturação e encadeamento da *pipeline* de análise volumétrica fossem tomadas. Neste sentido, a construção do novo *script* revelou-se mais facilitada.

Porém, este pacote de ferramentas mediado pelo MATLAB não apresenta uma modalidade de aplicação pela cadeia de comandos. Pelo menos não de uma forma direta, sendo ainda assim possível perceber quais as funções a que estas recorrem através de um método de *debugging*¹ existente no MATLAB, este sim um programa que permite a aplicação das suas bibliotecas por meio de um *script*. Assim, a principal dificuldade prendeu-se em traduzir para uma linguagem de comandos as funções aplicadas através da interface do

¹Paragem do algoritmo em pontos estratégicos de forma a perceber o seu estado naquele momento

SPM. Não foi também encontrada uma ferramenta de cálculo volumétrico das estruturas encefálicas segmentadas com funções análogas às do método *fslstats* no *script* FSL, pelo que um novo método teve de ser desenvolvido em ambiente MATLAB.

4.1.2.1 Otimização de ferramentas

Optou-se primeiramente pela aplicação do método *Coregister(Estimate&Reslice)*, descrito na secção 3.4.3.2. Também aqui a sequência FLAIR foi escolhida como referência, sofrendo as restantes o devido alinhamento espacial. De início testada por meio da interface do SPM, esta apresentou resultados visuais bastante satisfatórios, pelo que se decidiu proceder à sua aplicação em linguagem de comandos. Este foi um trabalho moroso, no qual se recorreu ao *debugger* do MATLAB por forma a identificar as funções e variáveis a utilizar através da colocação de *break points*² em locais estratégicos do código referente ao método em questão. Foi no fim possível compreender os mecanismos desta ferramenta de registo espacial, conseguindo-se atingir resultados iguais aos obtidos com recurso à interface.

Um processo semelhante foi utilizado com a ferramenta *Segment*. Decidida uma classificação em três classes com base numa sequência FLAIR e outra com ponderação em T1, o algoritmo foi testado primeiro com recurso à interface, seguindo-se o desenvolvimento do mesmo a partir de comandos no MATLAB.

O método de quantificação de volumes foi o último a ser pensado. Este atua sobre as imagens NIfTI já segmentadas, recorrendo à ferramenta *Tools for NIfTI and ANALYZE image* de forma a aceder aos cabeçalhos das mesmas, bem como respetivo conteúdo. O método desenvolvido começa por guardar numa matriz 3D os valores de intensidade de cada *voxel*, que varia entre 0 e 255, sendo de seguida realizada a sua normalização. Multiplica-se depois o valor normalizado pelas dimensões transversais e de profundidade do *voxel*, obtendo-se assim o volume ocupado por este em milímetros cúbicos (mm³). A sua conversão para mililitros (ml) é possibilitada pela multiplicação pelo fator 1×10^{-3} . O volume de cada *voxel* é por fim somado numa variável que, após percorrida toda a matriz 3D, irá conter o volume total da estrutura em análise. Este método de quantificação foi desenvolvido de forma a receber os três volumes segmentados de uma vez.

²Pontos de paragem no código

4.1.2.2 Encadeamento de ferramentas

O processo de encadeamento das ferramentas estudadas foi aqui mais simples, dado o número reduzido destas relativamente ao *script* do FSL. Recorre-se assim primeiramente à ferramenta de conversão de formato NIfTI para DICOM, seguindo-se o registo espacial por parte da função *Coregister(Estimate&Reslice)*, a segmentação com o programa *Segment*, a quantificação de volumes, cálculo de FPE e FSC e registo de resultados num ficheiro *.txt* recorrendo aos vários métodos construídos em MATLAB. O esquema da figura 4.3 permite ilustrar a *pipeline* descrita. Ao contrário do que sucedeu para o primeiro *script* do FSL, não foram desta vez observadas segmentações incorretas.

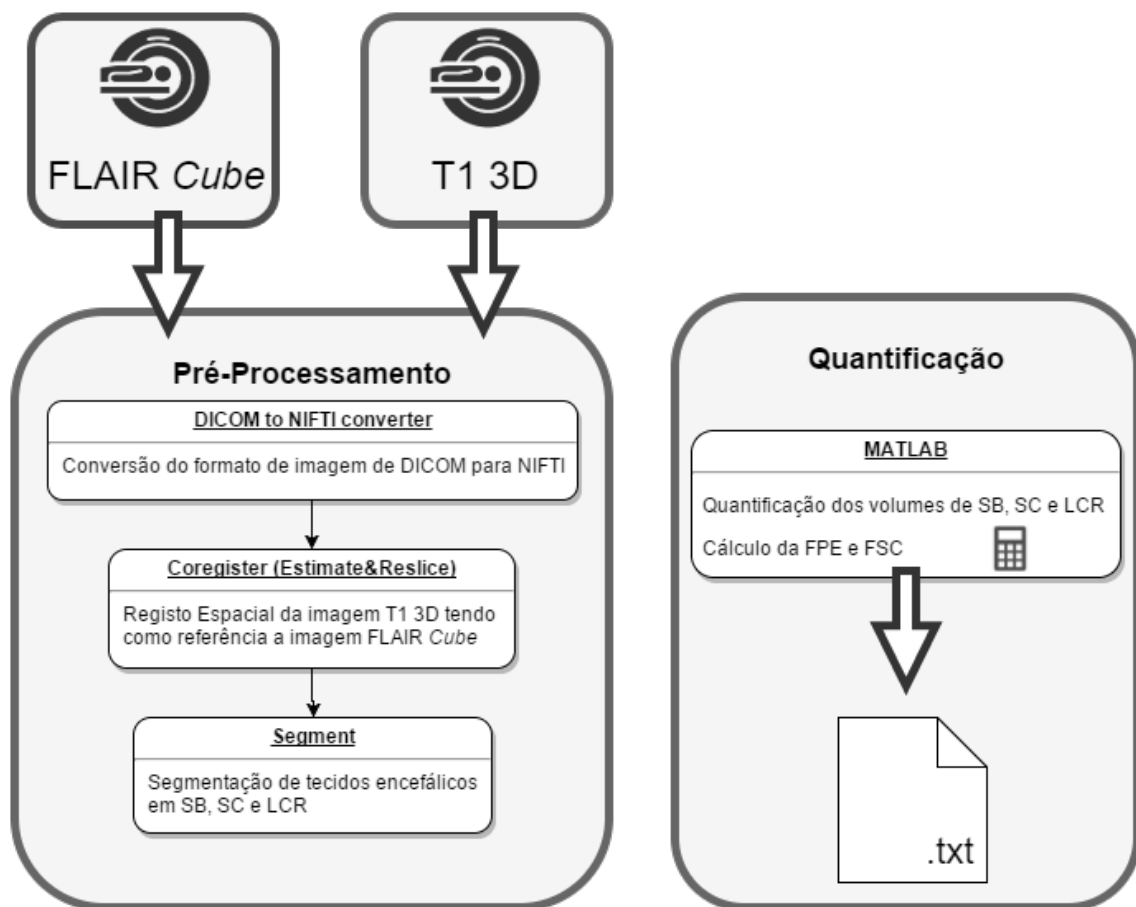


Figura 4.3: Esquema da análise volumétrica SPM

4.1.3 Escolha do *script* de análise volumétrica

Com dois *scripts* de quantificação volumétrica, era nesta fase importante optar pelo melhor deles, ou seja, o que permite obter valores mais próximos da referência dada pelos resultados da análise do MSMetrix. Os vinte casos foram assim submetidos a três ferramentas de análise de volumetria: os *scripts* do FSL e SPM e a ferramenta MSMetrix. Para cada um foram analisados quatro pares de sequências³, todas volumétricas:

- FLAIRs e T1c (FLAIR + T1c);
- FLAIRs e T1s (FLAIR + T1);
- FLAIRc e T1c (FLAIRc + T1c);
- FLAIRc e T1s (FLAIRc + T1).

4.1.3.1 MSMetrix e valores de referência volumétrica

Três fatores foram preponderantes na escolha deste método como a referência de quantificação de volumes.

Desde logo se conta com a abertura que a sua equipa de desenvolvimento mostrou em colaborar no âmbito deste estudo, ao permitir a submissão de todos os casos em análise e disponibilização dos respetivos relatórios.

O segundo fator foi a exibição do valor da constante de normalização dos volumes segmentados em cada relatório⁴, o que permitiu aferir o volume real (em ml) de cada caso através da aplicação do seguinte cálculo:

$$Volume\ Real = Volume\ Normalizado \times Constante\ de\ Normalização$$

O terceiro fator foi a existência de um espaço de observações em cada relatório, no qual se poderiam referir erros decorridos do processo analítico. Assim, cada um dos relatórios poderia ou não conter observações, correspondendo a ausência destas a um indicativo de que as imagens são adequadas para a análise realizada e, portanto, que os cálculos de volumetria e deteção de lesões se podem considerar fiáveis.

Foram registadas 15 observações num total de 59 relatórios. Destas, 7 pertencem a sujeitos do grupo 1 (ou seja, a todos os relatórios deste grupo), ora acusando erradas classificações de vasos sanguíneos como lesões, ora acusando artefactos na imagem T1. Paralelamente a isto não foram registadas quaisquer observações nos casos de sujeitos cujo protocolo dizia respeito às sequências FLAIR+T1, confirmando a recomendação de que estas serão as que melhor se adequam ao uso do MSMetrix no que diz respeito ao estudo da volumetria.

³Exceptuando-se os elementos do grupo 1 que apenas incluem duas sequências, como é descrito na secção 3.3

⁴Exibido na figura A.2, no espaço dedicado à análise de volumetria

Tendo isso em conta, os valores volumétricos referentes à análise das sequências FLAIR+T1 por parte do MSMetrix foram considerados como referência, o que implicou a exclusão dos sujeitos do grupo 1 por não possuírem sequências T1 sem contraste. O processo de comparação de métodos teve assim como base os dados dos 13 sujeitos pertencentes aos grupos 2 e 3.

4.1.3.2 Análise de Resultados

Foram comparados os dados volumétricos obtidos pelos *scripts* do FSL e SPM referentes aos volumes de SB, SC e parênquima encefálico, com os valores de referência calculados pelo MSMetrix. No que diz respeito aos *scripts*, para cada um dos 13 sujeitos foi feita uma quantificação para quatro pares de sequências, totalizando quatro valores de quantificação por sujeito. Estas foram comparadas com uma quantificação única do MSMetrix para cada sujeito, baseada no par de sequências FLAIR+T1, considerado como *gold standard*.

O primeiro indicador comparativo a que se recorreu foi o erro relativo, descrito pela seguinte equação:

$$\text{Erro relativo (\%)} = \frac{\text{Volume de referência} - \text{Volume medido}}{\text{Volume de referência}} \times 100$$

Foi depois efetuada a mediana de erro relativo obtido para cada tecido encefálico, para cada *script*. Os resultados estão expostos na tabela 4.2:

Tabela 4.2: Mediana de erro relativo para o volume estimado de tecidos encefálicos

Ferramenta	Mediana erro SB	Mediana erro SC	Mediana erro parênquima
FSL	-32,95 %	14,39 %	-4,86 %
SPM	-1,97 %	4,12 %	1,16 %

A primeira evidência que se verificou foi um valor em módulo menor para os volumes obtidos pelo *script* SPM, para todos os tecidos. Não se observou uma tendência muito clara no que diz respeito à sobre ou subestimativa de volumes. Enquanto para a SB se verifica uma sobrestimativa por parte de ambos os *scripts*, para a determinação de SC verifica-se o fenómeno contrário. Para o *script* SPM o valor mais desviado registou-se na estimativa de SC, ainda que este apenas corresponda ao valor de 4,12%, valor curiosamente menor em módulo que o melhor valor verificado para o *script* FSL (-4,86% para o parênquima encefálico).

Pretendendo-se em última análise proceder ao cálculo da FPE e FSC, os volumes mais relevantes a considerar seriam mesmo os de parênquima encefálico e SC. Enquanto que para a primeira estrutura se registaram os valores mais próximos da referência para ambos os *scripts*, para a SC observa-se uma tendência marcada de subestimativa por parte do FSL, sendo que para o SPM o resultado se revela bastante mais aceitável.

Recorreu-se de seguida ao método de Bland-Altman de forma a obter os valores de viés e dispersão da amostra, correspondendo o viés à média das diferenças entre os volumes obtidos por um dos *scripts* desenvolvidos (FSL ou SPM) e os de referência (MSMetrix). Procedeu-se também ao cálculo do CCI. A tabela 4.3 permite observar os resultados obtidos.

Tabela 4.3: Análise Bland-Altman e do CCI na comparação das estimativas de tecidos encefálicos por parte dos *scripts* FSL e SPM com os valores de referência. O termo Disp refere-se à dispersão da amostra

	SB			SC			Parênquima		
	Viés [ml]	Disp [ml]	CCI	Viés [ml]	Disp [ml]	CCI	Viés [ml]	Disp [ml]	CCI
FSL	-140,70	129,47	0,30	95,02	133,13	0,50	-45,68	122,28	0,94
SPM	-17,54	134,29	0,80	30,26	101,67	0,84	12,71	139,43	0,96

Também aqui é possível observar uma clara tendência por parte do *script* SPM em se superar ao FSL tendo em conta os valores de viés e CCI obtidos.

Todos os valores absolutos do viés resultantes da análise do SPM são inferiores aos relativos à análise FSL. No cálculo de volume da SB por parte do FSL este chega mesmo a atingir o valor de -140,70 ml, algo bastante significativo quando a média dos valores de referência para esta estrutura ronda os 400 ml. O melhor valor de viés obtido pela análise FSL regista-se na estimativa do volume de parênquima encefálico, -45,68 ml. É também para esta estrutura que se regista o melhor valor de CCI na análise FSL: 0,94, o que revela concordância com o método MSMetrix. No entanto, quando se atenta à volumetria da SC e SB, os indicadores pioram: 0,50 e 0,30 respetivamente, o que indicia uma fraca reprodutibilidade por parte deste *script*.

A quantificação de volumetria efetuada pela análise SPM mostra indicadores bem mais positivos. Com o valor mais desviado de viés a corresponder à estimativa de SC (30,26 ml), esta análise apresenta ainda valores de CCI que revelam uma excelente concordância, especialmente para o parênquima encefálico (0,96).

A tendência favorável ao *script* SPM deixa apenas de se verificar quando se atenta os valores de dispersão. Aqui verifica-se uma ligeira vantagem para a metodologia FSL, que apresenta menores valores para a volumetria de SB e do parênquima encefálico. Ainda assim as diferenças dos valores de dispersão não se podem considerar significativas. Os maiores intervalos de dispersão registados para *script* SPM revelam valores de diferença de volumes discrepantes, o que significa que podem ser explicados por uma ou mais medições mais distantes da referência.

Pesados os resultados obtidos pelas três análises estatísticas efetuadas, as evidências apontavam claramente no sentido da escolha do *script* SPM em detrimento do desenvolvido com base no FSL. De facto, não era só aqui que este apresentava vantagens relativamente ao FSL. Além do seu processamento ser cerca de 4 vezes mais rápido, o desenvolvimento do seu *script* requer a instalação de menos programas (apenas o MATLAB e algumas bibliotecas), algo que torna mais simples a sua integração no sistema do Hospital Egas Moniz (HEM).

Optou-se assim pela continuação do desenvolvimento da ferramenta imagiológica com recurso ao *script* SPM para a análise volumétrica.

4.2 Análise da carga lesional

Entrava-se agora numa segunda fase de construção da *pipeline*. Com uma ferramenta de análise volumétrica a gerar resultados satisfatórios no que diz respeito à medição de volume das principais estruturas encefálicas, iniciou-se um processo de pesquisa por uma ferramenta de análise da carga lesional.

Devido a limitações de tempo, optou-se por adotar uma única ferramenta. A escolha recaiu sobre o pacote LST e a sua ferramenta LGA, um instrumento muitas vezes referenciado e tido em boa consideração por parte dos estudos conduzidos nesta área nos últimos anos, algo que de resto já foi mencionado na secção 2.5. Além disso, conta ainda com outras duas importantes vantagens: a primeira prende-se com o facto de esta fazer parte do SPM, pacote já utilizado no âmbito da análise volumétrica. A segunda vantagem assenta na forma como a ferramenta exhibe os resultados, ao produzir um relatório em formato HTML. Num raciocínio semelhante ao aplicado no desenvolvimento do *script* de análise volumétrica, as funções da ferramenta LGA teriam de ser estudadas de forma a conseguir a sua execução por meio da cadeia de comandos em linguagem *bash*. Com base neste recurso a manipulação dos valores exibidos no relatório HTML é também possível, o que poderia assegurar a exibição de resultados de toda a análise desenvolvida num formato visualmente mais agradável ao interpretador, cuja leitura pode ser possibilitada por qualquer *browser*.

4.2.1 Integração da ferramenta LGA

A integração da ferramenta LGA constituía o último passo no desenvolvimento da *pipeline* de quantificação. Além da caracterização de volumetria da carga lesional em FLAIR (número de lesões e volume total das mesmas, em ml), pretendia-se que esta possibilitasse a apresentação dos resultados finais de toda a análise num relatório HTML.

Após uma primeira avaliação da sua atuação por meio de uma interface, seguiu-se a aplicação para a linguagem de comandos recorrendo novamente ao método de *debugging* possibilitado pelo MATLAB. À semelhança da ferramenta de segmentação *Segment*,

também esta requeria uma imagem FLAIR e outra de ponderação em T1 registadas espacialmente, pelo que uma prévia atuação da ferramenta *Coregister(Estimate&Reslice)* foi necessária. Atingidos os mesmos resultados obtidos através do recurso à interface, ficava assim desenvolvido o *script* de análise de carga lesional. Restava agora proceder ao encadeamento deste com o *script* volumétrico, o que requeria a devida adaptação do relatório HTML.

4.2.1.1 Construção do relatório

Era nesta fase importante perceber que indicadores deveriam ser exibidos no relatório final. Após uma conversa com o corpo clínico do HEM, e tendo em conta o modelo de relatório da ferramenta LGA, optou-se pela criação de dois espaços, um dedicado aos dados clínicos e outro aos resultados da ferramenta.

A exibição dos dados clínicos dependia da informação contida nos cabeçalhos das imagens relativas a cada caso. Assim optou-se pela exibição da seguinte informação:

- Nome do doente;
- Sexo e idade;
- Número de processo clínico do doente;
- Data da análise QuantEmTool;
- Data de aquisição das IRM em que a análise se baseou.

No que diz respeito aos dados resultantes da análise efetuada, optou-se pela exibição dos seguintes indicadores:

- Volume de carga lesional, em ml;
- Número de lesões;
- Volume de SB, SC e LCR, em ml;
- Volume de parênquima encefálico em ml;
- FPE e FSC.

Após se ter localizado a função responsável pela criação do ficheiro HTML, de nome *ps_LST_lga.m*, foi iniciado um processo de adaptação desta de forma a conseguir transmitir todos os indicadores pretendidos.

O *script* volumétrico do SPM foi reduzido até à fase de cálculo de volume das principais estruturas encefálicas (SB, SC e LCR). Nesta fase é incluída também a leitura da informação relativa aos dados clínicos por meio da ferramenta *Tools for NIfTI and ANALYZE image*, realizando-se de seguida um encaminhamento de todos os indicadores para a função *ps_LST_lga.m*. É nela que se procede às devidas adaptações de código MATLAB que

possibilitam o cálculo dos restantes parâmetros volumétricos, bem como a exibição de toda a informação reunida no ficheiro HTML.

Foi escolhido o nome de QuantEmTool para a ferramenta, tendo inclusivamente sido criado um logotipo. Este logotipo é também integrado no relatório. A imagem 4.4 exhibe o aspeto do resultado final. Nela podemos identificar os espaços reservados aos dados clínicos e aos resultados da análise, bem como as imagens referentes ao logotipo criado e às três instituições que possibilitaram o desenvolvimento da ferramenta em questão - a FCT-UNL, o IBEB e o HEM.



Figura 4.4: Exemplo de relatório gerado pela ferramenta QuantEmTool

4.3 Interface

Uma vez integradas num só *script* as ferramentas de análise da carga lesional e de quantificação de atrofia cerebral, recorreu-se ao *software* Xcode de forma a criar o ambiente de interação entre a ferramenta e o utilizador. Visto que os resultados são exibidos por intermédio de um relatório HTML, optou-se por uma interface com um *design* o mais simples e intuitivo possível. A figura 4.5 corresponde à interface desenvolvida.

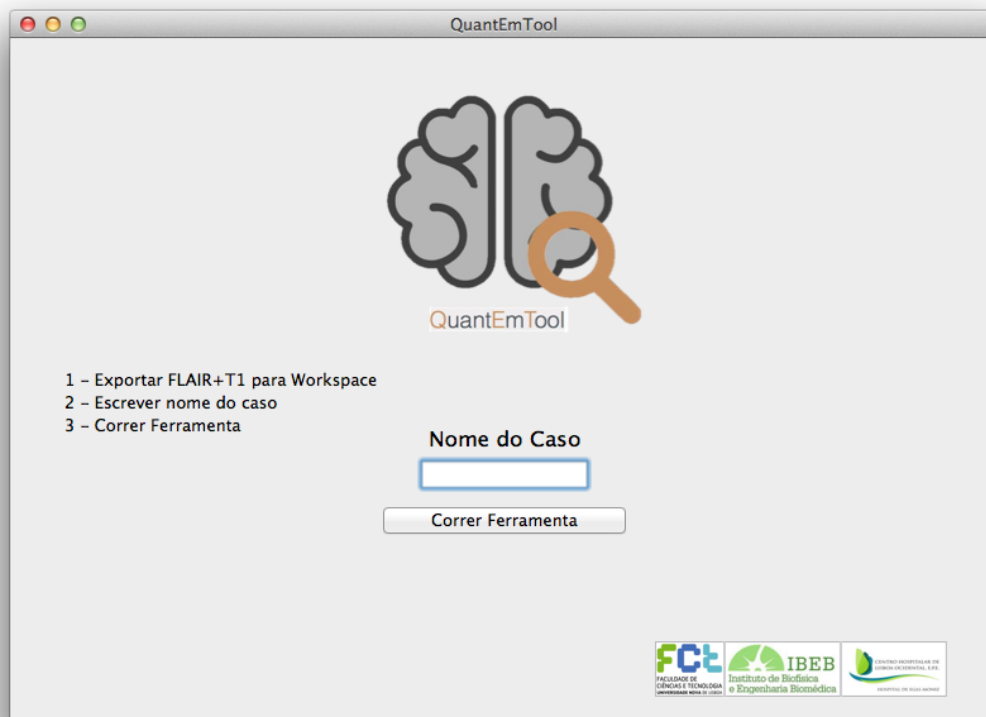


Figura 4.5: Interface da ferramenta QuantEmTool

A interface da ferramenta QuantEmTool apresenta um espaço com as suas instruções de utilização, um outro reservado à interação com o utilizador e por fim as imagens referentes ao logotipo e às instituições parceiras do projeto.

Vejamos a que corresponde o cumprimento de cada uma das três instruções:

1. *Exportar FLAIR+T1 para Workspace* - No ambiente OsiriX, exportar as imagens DICOM relativas às sequências volumétricas FLAIR e com ponderação em T1 para a pasta *Workspace*, reservada para a atuação deste *plugin*. Após a exportação, é importante dar o nome *FLAIR* à pasta relativa às imagens FLAIR *Cube*, e *T1* à pasta de imagens T1 3D. As figuras B.1 até B.4 permitem uma melhor compreensão do processo descrito.

2. *Escrever o nome do caso* - Fornecer o nome do caso a analisar, tal como se exemplifica na figura B.7
3. *Correr Ferramenta* - Clicar no botão *Correr Ferramenta*. Esta ação vai fazer com que se crie dentro da pasta *Workspace* uma nova com o nome inserido na interface, sendo as pastas *T1* e *FLAIR* movidas para este novo diretório. As figuras B.8 e B.9 ilustram este processo.

Após se premir o botão *Correr Ferramenta* a interação com o utilizador termina, ficando o programa OsiriX interrompido até que a ferramenta QuantEmTool finalize o seu processamento. O tempo que este demora depende da capacidade do computador em uso. Para o presente estudo utilizou-se um computador com uma unidade de processamento central composta por dois núcleos e memória RAM de 3,7 Gigabytes, tendo-se registado casos em que este durou cerca de 40 minutos, e outros em que se atingiu a duração de uma hora e meia. No final, o relatório HTML é gerado dentro da pasta com o nome escolhido, como se pode observar na B.10. Os ficheiros produzidos durante a análise são removidos.

No apêndice B são ainda mencionados alguns pormenores relativos à utilização do *plugin*. Por exemplo, para a execução deste, o OsiriX deve estar em modo de visualização de imagens (figuras B.5 e B.6), e para aceder ao relatório basta recorrer ao *browser* local do computador.

4.4 Discussão

Apesar de não ter ainda sido amplamente testada e validada, os primeiros resultados obtidos pela ferramenta QuantEmTool podem ser considerados bastante satisfatórios. O facto do seu processamento recorrer à atuação de algoritmos que contam já com alguns anos de experiência e que são tidos em boa consideração por parte de outros métodos de igual índole permitiu atingir resultados próximos dos considerados como referência.

O desenvolvimento do *script* de análise volumétrica do pacote FSL, por ter sido a primeira abordagem à linguagem de comandos *bash*, revelou-se um processo bastante moroso. Foi aliás para este *script* que se dedicou mais tempo à otimização de cada ferramenta de análise. Destacam-se particularmente a ferramenta BET com a exploração das variadas opções disponíveis, e ainda o FAST, para o qual se analisou a viabilidade de utilização de mais que duas sequências imagiológicas ou até mesmo a segmentação de mais do que três classes de tecidos.

Dada a limitação do tempo não se teve o mesmo rigor no desenvolvimento do *script* de análise SPM, que incluía nas suas ferramentas de registo espacial de imagem (Corregister(Estimate&Reslice)) e de segmentação de tecidos (*Segment*) algumas opções que poderiam ter sido otimizadas para os diferentes protocolos imagiológicos utilizados. O difícil processo de *debugging* na tradução dos métodos implementados na interface para a linguagem de comandos constituiu outro fator para a decisão de se ter optado pela não exploração de outras opções dos métodos em causa. Ainda assim os resultados de volumetria obtidos pelo *script* SPM revelaram-se bastante mais próximos da referência do que os obtidos recorrendo à biblioteca do FSL. Este facto não deve, no entanto, ilibar a pouca exploração das ferramentas do SPM, uma vez que os indicadores de análise estatística nos indicam que alguns valores resultantes desta quantificação poderiam ser mais próximos da referência. Em particular os valores de dispersão obtidos pelo método de Bland-Altman assumiram um intervalo de volume considerável, que poderia claramente ser melhorado.

A análise volumétrica levada a cabo pela ferramenta MSMetrix compreende uma fase de normalização dos volumes das estruturas encefálicas medidas. Este processo permite um posterior enquadramento destes volumes com os valores tabelados de referência, possibilitando a análise imediata do estado de atrofia encefálica e de SC, como pode ser observado na figura A.2. Na bibliografia estudada não foi encontrado um método de normalização, pelo que este passo não foi incluído na *pipeline*. Como alternativa optou-se pela aplicação das equações 2.1 e 2.2 de forma a obter os indicadores de FPE e FSC. No entanto, não foi encontrada para estes uma concordância nos valores considerados como típicos de atrofia ou que antes indiquem o contrário. Uma análise estatística dos resultados é necessária para aferir a utilidade destes indicadores, sendo no entanto possível concluir para já que estes não permitem uma discriminação tão boa entre níveis de atrofia como a escala de percentil de volumes normalizados a que o MSMetrix recorre. A falta de consenso na bibliografia consultada acerca dos valores típicos de FPE e FSC fez com que

para já não se procedesse à inclusão dos seus intervalos de enquadramento no relatório da ferramenta QuantEmTool.

A questão da limitação de tempo tornou-se ainda mais influente na fase de desenvolvimento do *script* de análise da carga lesional. O pacote de ferramentas LST foi por diversas vezes bem referenciado na bibliografia consultada, correspondendo assim à escolha mais natural. Não se recorreu, no entanto, a outra ferramenta de quantificação de lesões, pelo que o estudo deste indicador não foi assim tão completo como o efetuado para a análise de volumetria. Pelo facto de também ter sido necessário recorrer ao processo de *debugging* para o desenvolvimento deste *script* analítico, a otimização de parâmetros referentes ao algoritmo LGA que este possibilitava não foi realizada. Também aqui uma análise comparativa dos valores obtidos com os de referência é ainda necessária para aferir a qualidade dos resultados, ficando no entanto para já a nota de que a exploração de alternativas ao método utilizado poderia ter sido vantajosa para o âmbito do presente estudo.

A opção pelo pacote de ferramentas LST implicou ainda o abandono de uma das premissas inicialmente estabelecidas, a deteção da carga lesional de todas as naturezas: lesões hiperintensas em imagens FLAIR, lesões hiperintensas em sequências de ponderação em T1 com injeção de contraste e *black holes* detetados em qualquer imagem de ponderação em T1. A ferramenta adotada possibilita apenas a deteção do primeiro tipo de lesões. Como já foi referido na secção 2.5.1, a deteção de lesões desta natureza tem sido alvo de bastante mais atenção por parte dos estudos realizados no âmbito desta área de investigação. A verdade é que o número de lesões registado nas sequências FLAIR é bastante maior quando comparado às restantes. A única ferramenta encontrada que refere a deteção das 3 naturezas de lesões data já de 2006 [44], recorrendo inclusivamente a sequências imagiológicas diferentes das adotadas pelo HEM (a sequência de ponderação em T1 com contraste é a única em comum, recorrendo depois a DP e ponderação em T2 com contraste). O desenvolvimento da ferramenta de análise seguiu assim a tendência registada nos últimos anos, ao se restringir à deteção de hiperintensidades em FLAIR.

No relatório original da ferramenta LGA (A.1) são apresentadas imagens relativas à segmentação de lesões efetuada. No entanto na tradução para a linguagem de comandos *bash* este processo perdeu-se, não tendo sido identificada a razão para o justificar e proceder às devidas correções. Os resultados visuais não foram assim integrados no relatório final, um indicador que se revelaria bastante útil ao oferecer aos médicos a perceção visual da distribuição das lesões identificadas, permitindo ainda uma posterior comparação com as lesões observadas nas imagens originais. Uma outra solução para este problema seria incluir o ficheiro NIfTI relativo ao mapa de lesões determinado pela ferramenta LST na pasta relativa ao caso em análise, a par do próprio relatório. Porém, um visualizador de imagens deste formato seria necessário. Esta solução está ainda a ser considerada e poderá ser incluída em versões posteriores da ferramenta QuantEmTool.

ESTUDOS DE OTIMIZAÇÃO E CORRELAÇÃO

É primeiramente apresentado um estudo que incide sobre as diferenças entre os protocolos imagiológicos adotados. Este inclui a análise da combinação de vários pares de sequências utilizadas, bem como da adoção de diferentes parâmetros de imagem. É de seguida realizada uma análise correlativa de forma a aferir que sequências volumétricas melhor se adequam à ferramenta QuantEmTool, tanto para a estimativa do nível de atrofia cerebral como para o cálculo da carga lesional. Por fim, averigua-se a hipótese de uma possível existência de correlação entre os dados obtidos pela ferramenta desenvolvida e os dados clínicos relativos à ficha de cada doente.

5.1 Diferenças de protocolo imagiológico

A adoção de duas outras sequências imagiológicas além das já utilizadas para o estudo da EM ofereceu a possibilidade de submissão nas ferramentas de análise desenvolvidas (*script* FSL e QuantEmTool) ou a que se recorreu (MSMetrix) de quatro protocolos imagiológicos diferentes:

- FLAIRs e T1c (FLAIR + T1c);
- FLAIRs e T1s (FLAIR + T1);
- FLAIRc e T1c (FLAIRc + T1c);
- FLAIRc e T1s (FLAIRc + T1).

Ao mesmo tempo, no decorrer do estudo foram efetuadas alterações nos parâmetros imagiológicos da sequência T1 3D, ao se procurar um aumento do quociente sinal-ruído através da diminuição da resolução espacial.

Estas mudanças no protocolo de imagem estão na base da diferenciação entre o grupo 1, 2 e 3 de sujeitos analisados, como se pode conferir na secção 3.3. No presente espaço pretende-se aferir se as diferentes características de cada grupo de sujeitos analisados apresentam ou não uma diferença significativa nos resultados obtidos e, no caso afirmativo, perceber qual o protocolo imagiológico praticado que melhor se adequa à atuação da ferramenta e às necessidades específicas do HEM.

5.1.1 Influência da natureza das sequências de imagem utilizadas

Pretendeu-se primeiramente averiguar se de facto se verificam diferenças nos resultados volumétricos resultantes da atuação das ferramentas MSMetrix, FSL e QuantEmTool perante a submissão dos 4 diferentes protocolos de imagem. Para este propósito recorreu-se ao teste de Friedman, estando os resultados relativos ao *valor p* expostos na tabela 5.1. Por apenas apresentarem duas sequências volumétricas de imagem, os sujeitos do grupo 1 foram excluídos desta análise.

Tabela 5.1: Aplicação do Teste de Friedman na análise de diferenças entre protocolos imagiológicos para a estimativa volumétrica de estruturas encefálicas e de carga lesional por parte de 3 ferramentas de análise. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	<i>valor p</i>		
	MSMetrix	FSL	QuantEmTool
SB	0,02800*	0,14460	0,52000
SC	0,02005*	0,07157	0,00043*
Parênquima	0,19450	0,00165*	0,00027*
LCR	-	0,00013*	0,00023*
Volume de carga lesional	0,23910	-	0,00335*

Como é possível observar, em praticamente todas as análises se reportam resultados significativos. Para a ferramenta QuantEmTool em particular apenas a determinação de SB parece assumir a mesma distribuição em todos os protocolos. A SB é de resto a estrutura encefálica que mais constante se parece manter mediante a atuação de diferentes protocolos, ao apenas exibir um *valor p* significativo para a ferramenta MSMetrix. Esta é também a única estrutura cujo volume não entra diretamente no cálculo de FPE e FSC, pelo que a sua determinação não se considera tão importante como a dos restantes. Os volumes de LCR mostram diferenças significativas em todas as ferramentas que procedem ao seu cálculo, o *script* FSL e QuantEmTool, ferramentas essas que também revelam significância na determinação da sua estrutura complementar, o parênquima encefálico.

Para cada um dos resultados significativos foi realizado o teste *post hoc* de Bonferroni, de forma a averiguar a concordância entre pares de protocolos. A tabela 5.2 mostra os resultados obtidos para a ferramenta QuantEmTool.

Tabela 5.2: Aplicação do Teste *post hoc* de Bonferroni na análise de diferenças entre cada par de protocolo imagiológico para a estimativa volumétrica efetuada pela ferramenta QuantEmTool. Apenas foi aplicado para as estruturas cujos resultados volumétricos revelaram diferenças significativas na tabela 5.1. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	QuantEmTool			
	SC	Parênquima	LCR	Carga Lesional
FLAIR+T1c - FLAIR+T1	0,03149*	0,00085*	0,01282*	0,00323*
FLAIRc+T1 - FLAIR+T1	0,79874	0,42596	0,71187	0,99513
FLAIRc+T1c - FLAIR+T1	0,00042*	0,00022*	0,00023*	0,03266*
FLAIRc+T1 - FLAIR+T1c	0,26406	0,10298	0,19756	0,00764*
FLAIRc+T1c - FLAIR+T1c	0,61709	0,99027	0,71187	0,88894
FLAIRc+T1c - FLAIRc+T1	0,01298*	0,04813*	0,01282*	0,06285

Podemos categorizar estes primeiros resultados em três conjuntos:

- Comparações FLAIR+T1c e FLAIR+T1, FLAIRc+T1C e FLAIR+T1, FLAIRc+T1c e FLAIR+T1. Registam-se significâncias, reveladoras de diferenças entre pares de protocolos. Estas observaram-se para todas as estruturas investigadas;
- Constituído apenas por uma comparação, FLAIRc+T1 e FLAIR+T1c, apenas assume um *valor p* significativo para a determinação de carga lesional, aproximando-se no entanto os restantes do valor que se assume como significativo;
- Constituído pelas restantes duas comparações, apresenta *valores p* bastante altos, o que revela que os volumes estimados assumem a mesma distribuição.

Seguiu-se a aplicação do mesmo teste no âmbito da atuação das ferramentas MSMetrix e FSL, mais uma vez apenas para as estruturas cujos resultados volumétricos revelaram diferenças significativas na submissão de diferentes protocolos de imagem. A tabela 5.3 apresenta os resultados obtidos.

Tabela 5.3: Aplicação do teste *post hoc* de Bonferroni na análise de diferenças entre cada par de protocolo imagiológico para a estimativa volumétrica efetuada pelas ferramentas FSL e MSMetrix. Apenas foi aplicado para as estruturas cujos resultados volumétricos revelaram diferenças significativas na tabela 5.1. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	MSMetrix		FSL	
	SB	SC	Parênquima	LCR
FLAIR+T1c - FLAIR+T1	0,06600	0,46888	0,61709	0,00011*
FLAIRc+T1 - FLAIR+T1	0,98890	0,29589	0,07133	0,92969
FLAIRc+T1c - FLAIR+T1	0,73060	0,01957*	0,42596	0,00043*
FLAIRc+T1 - FLAIR+T1c	0,02813*	0,99016	0,00158*	0,00151*
FLAIRc+T1c - FLAIR+T1c	0,48116	0,46888	0,03155*	0,99027
FLAIRc+T1c - FLAIRc+T1	0,53121	0,66236	0,79874	0,00460*

A tendência verificada para a atuação da ferramenta QuantEmTool não se mostra aqui tão vincada. Para a ferramenta MSMetrix apenas se registou uma significância na determinação de cada estrutura: entre o par de sequências FLAIRc+T1 e FLAIR+T1c para o volume de SB, e o par FLAIRc+T1c e FLAIR+T1 no cálculo de SC. No que diz respeito ao *script* FSL a determinação do volume de LCR foi a que demonstrou mais diferenças significativas, apresentando apenas *valores p* altos quando as únicas diferenças foram determinadas pelas sequências FLAIR, mantendo-se a natureza da sequência T1 3D. Na análise do parênquima encefálico observaram-se menos resultados significativos, verificando-se inclusivamente a única ocorrência no qual a sequência FLAIR parece influenciar diretamente o cálculo de volumetria, na comparação entre os protocolos FLAIRc+T1c e FLAIR+T1c.

5.1.2 Influência da alteração de parâmetros na sequência T1 3D

Recorreu-se ao teste de Kruskal-Wallis de forma a perceber se a alteração de parâmetros imagiológicos na sequência T1 3D, que dita as diferenças entre os grupos de sujeitos 2 (formado por 9 elementos) e 3 (que compreende apenas 4), terá ou não influência no cálculo da volumetria das estruturas em análise. Mais uma vez para esta análise estudaram-se os volumes estimados por parte das três ferramentas utilizadas: o MSMetrix, o FSL e o QuantEmTool, tendo-se comparado os dados relativos aos sujeitos incluídos no grupos 2 com os referentes ao grupo 3. Os resultados apresentam-se na tabela 5.2.

Tabela 5.4: Aplicação do teste Kruskal-Wallis na análise de diferenças na estimativa volumétrica em imagens com parâmetros imagiológicos distintos na sequência T1 3D. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	<i>valor p</i>		
	MSMetrix	FSL	QuantEmTool
SB	0,428	0,812	0,142
SC	0,219	0,312	0,766
Parênquima	0,766	0,475	0,953
LCR	-	0,463	0,475
Volume de Carga Lesional	0,436	-	0,463

Como se pode observar, para esta análise não se registou qualquer *valor p* inferior a 0,05, algo que sugere que os volumes calculados pelas diferentes ferramentas utilizadas apresentam a mesma distribuição nos grupos de sujeitos 2 e 3, mesmo com as alterações efetuadas nos parâmetros imagiológicos da sequência T1 3D. Registam-se ainda assim alguns *valores p* reduzidos, nomeadamente no cálculo da SC por parte do MSMetrix e do *script* FSL e ainda na determinação de SB efetuada pela ferramenta QuantEmTool. O cálculo do parênquima encefálico e da SC por parte desta última ferramenta revela alguns dos mais altos *valores p* observados, o que pode significar que o cálculo de FPE e FSC não é afetado pelas diferenças entre os dois grupos em questão.

5.1.2.1 Discussão

O estudo das diferenças entre protocolos imagiológicos que estão na base na distinção dos grupos de sujeitos permitiu esboçar algumas importantes reflexões.

Num panorama geral, a ferramenta MSMetrix parece revelar os resultados mais consistentes, ao apresentar apenas duas diferenças significativas em todas as comparações de volumes por si estimados. Os resultados sugerem uma certa estabilidade por parte desta ferramenta, provando a sua versatilidade na admissão destes 4 diferentes protocolos imagiológicos.

Para a ferramenta QuantEmTool e o *script* FSL não se registam tão poucas diferenças significativas. As principais diferenças observadas registam-se para as comparações de sequências T1 com e sem contraste. Para a determinação de volumes em que estas duas sequências se opõem, os resultados de *valor p* apresentam-se quase sempre significativos. Em particular para a ferramenta QuantEmTool esta tendência verifica-se de forma bastante clara, ao apenas não apresentar um *valor p* significativo aquando da introdução de diferentes sequências FLAIR. Será de resto apenas aqui que se verifica uma influência ativa por parte da sequência FLAIR com contraste, uma vez que nas restantes comparações diretas entre esta e a sequência da mesma natureza que não recorre ao agente contrastante não se verificam resultados significativos (apenas se regista uma ocorrência destas na análise FSL).

No que diz respeito à mudança de parâmetros imagiológicos na sequência T1 3D os resultados revelaram-se bastante positivos, ao permitir concluir que à redução da influência de ruído registada (que é possível conferir através da comparação entre as figuras D.2 e D.3, disponíveis em apêndice) se alia a manutenção de fiabilidade dos resultados volumétricos.

Há no entanto a ressaltar que os bons resultados obtidos podem apenas resultar de diferenças relacionadas com a própria doença. Uma solução mais concludente teria sido possibilitada através da aplicação das duas sequências aos mesmos indivíduos, de forma a assegurar que a análise dependa apenas de um parâmetro.

Importante ainda referir que no âmbito deste estudo teria sido interessante proceder à comparação das razões sinal-ruído das imagens de cada grupo, permitindo assim uma análise das respetivas diferenças. Esta avaliação só não foi realizada devido a limitações de tempo.

5.2 Estudo dos resultados da ferramenta QuantEmTool

Uma vez verificadas diferenças nos resultados volumétricos obtidos com imagens de diferentes protocolos submetidas na ferramenta QuantEmTool, procurou-se nesta secção perceber quais são as sequências que melhor se adequam ao estudo dos indicadores de atrofia (FPE e FSC) e também de carga lesional (volume total e número de lesões). Para esta análise recorreu-se mais uma vez aos dados dos sujeitos inseridos nos grupos 2 e 3, pelo facto de serem os únicos a incluir 4 protocolos de imagem e terem apresentado valores volumétricos concordantes entre si na análise efetuada na secção 5.1.2.

5.2.1 Escolha dos valores de referência

Para uma análise adequada é importante ter em conta uma cuidada escolha dos valores de referência. Assim e sempre que possível, recorreu-se a uma quantificação dos indicadores acima referidos por parte de médicos neurorradiologistas, especialistas na avaliação de casos de EM. Esta perspetiva clínica apenas não foi utilizada para os indicadores de atrofia de substância cinzenta e de volume de carga lesional, pelo facto de não se ter encontrado uma escala semi-quantitativa que pudesse cumprir o dito propósito.

Num raciocínio semelhante ao utilizado na escolha da referência para a comparação de *scripts* volumétricos efetuada na secção 4.1.3.1, também aqui se recorreu aos valores contidos nos relatórios de análise MSMetrix relativos ao protocolo FLAIR+T1. Apenas o indicador do número de lesões não é fornecido pela análise desta ferramenta.

Assim, para os quatro indicadores em análise calculados pela QuantEmTool, conta-se com as seguintes referências:

- **FPE** - conta-se por um lado com a classificação na EACG, e por outro com uma avaliação com base na análise MSMetrix. Para esta última ferramenta recorreu-se ao resultado do enquadramento da atrofia disponibilizado no espaço reservado aos volumes cerebrais e que pode ser conferido na figura A.2. Foram definidas três classificações correspondentes às três cores relativas aos percentis de volume de parênquima encefálico determinados pelo *MSMetrix*: não atrofiado (verde), atrofiado (amarelo) ou severamente atrofiado (azul);
- **FSC** - recorreu-se apenas aos resultados do relatório MSMetrix, cuja correspondência entre o valor de percentil lido no relatório e o grau de atrofia interpretado foi realizada num raciocínio análogo ao tido com a atrofia cerebral;
- **Volume de carga lesional** - foram utilizados como referência os valores medidos pela ferramenta MSMetrix e igualmente disponibilizados nos relatórios por si produzidos;
- **Número de lesões** - foi efetuada uma contagem por parte de um médico neurorradiologista.

5.2.2 Determinação do nível de atrofia

Procedeu-se à análise da FPE calculada pela QuantEmTool, recorrendo-se ao método de Spearman por forma a fazer uma comparação com os valores de atrofia medidos na EACG e MSMetrix. Por se contar com estes dois indicadores de referência, foi numa primeira fase importante aferir a existência de correlação entre ambos. Os resultados revelaram-se bastante positivos nesse sentido, ao se registar um ρ de 0,847 e um *valor p* de 0,00025. Revelada uma concordância entre estas duas referências realizou-se então a análise correlativa, cujos resultados podem ser consultados na tabela 5.5.

Tabela 5.5: Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa da FPE efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

FPE QuantEmTool	Nível de atrofia cerebral MSMetrix		EACG	
	<i>valor p</i>	ρ	<i>valor p</i>	ρ
FLAIR+T1c	0,0042*	-0,7347	0,0075*	-0,7016
FLAIR+T1	0,0019*	-0,7739	0,0025*	-0,7617
FLAIRc+T1c	0,0028*	-0,7558	0,0009*	-0,8047
FLAIRc+T1	0,0019*	-0,7739	0,0006*	-0,8219

Todos os resultados de *valor p* se mostraram inferiores a 0,05 e portanto significativos, revelando uma correlação inversa entre as FPE estimadas e os valores de referência. O valor em módulo mais baixo de correlação registado verificou-se para a sequência FLAIR+T1c, com um ρ de -0,7347 relativamente à referência MSMetrix e de -0,7016 para a EACG, resultados ainda assim bastante altos. Os melhores índices correlativos foram obtidos pelo protocolo FLAIRc+T1, com um ρ de -0,7739 para o MSMetrix e de -0,8219 para a EACG. Os protocolos que incluem a sequência FLAIR com contraste foram de resto os que mostraram uma maior correlação, não se verificando, no entanto, um grande destaque por parte dos seus protocolos relativamente aos restantes.

Procedeu-se mais uma vez à aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre os valores de FSC e a referência ditada pelo MSMetrix. Os resultados estão expostos na tabela 5.6.

Tabela 5.6: Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa da FSC efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

FSC QuantEmTool	Nível de atrofia da SC MSMetrix	
	<i>valor p</i>	ρ
FLAIR+T1c	0,083	-0,499
FLAIR+T1	0,199	-0,381
FLAIRc+T1c	0,144	-0,428
FLAIRc+T1	0,256	-0,340

Contrariamente aos resultados relativos à FPE, nenhum dos *valores p* registados para esta análise se apresentou significativo, revelando uma fraca correlação com a referência do MSMetrix. Ainda assim é possível detetar uma tendência de correlação inversa, transparecida pela negatividade dos valores de ρ . O protocolo FLAIR+T1c verifica o maior valor em módulo deste índice, destacando-se em particular as sequências de ponderação em T1 que recorrem ao agente contrastante como as que apresentam melhores índices correlativos. Mais uma vez para este teste registaram-se resultados bastante uniformes para todos os protocolos em estudo.

5.2.3 Determinação de carga lesional

Optou-se primeiramente por efetuar uma análise da volumetria de carga lesional, tendo-se recorrido mais uma vez ao teste de Spearman. Os resultados apresentam-se de seguida, na tabela 5.7.

Tabela 5.7: Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa do volume de carga lesional efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

Volume Lesional QuantEmTool	Volume Lesional MSMetrix	
	<i>valor p</i>	ρ
FLAIR+T1c	$2,00 \times 10^{-8*}$	0,974
FLAIR+T1	$5,49 \times 10^{-9*}$	0,979
FLAIRc+T1c	$2,00 \times 10^{-8*}$	0,974
FLAIRc+T1	$5,49 \times 10^{-9*}$	0,979

Com resultados bastante baixos de *valor p* e bastante altos de ρ , é possível verificar com segurança a existência de uma forte correlação direta entre o volume de carga lesional calculado pela ferramenta QuantEmTool e os valores de referência. Os melhores valores registam-se em dois protocolos, FLAIR+T1 e FLAIRc+T1. É interessante observar que os dois outros protocolos também apresentam os mesmos resultados para os índices correlativos, sugerindo que o agente contrastante da sequência T1 3D constitui o fator diferenciador nesta determinação volumétrica. Mais uma vez os resultados correlativos mostram-se bastante uniformes, revelando uma boa adequação por parte de todos os protocolos imagiológicos no cálculo do volume de carga lesional.

Com o objetivo de complementar esta análise, recorreu-se de seguida ao cálculo do erro absoluto, dado pela seguinte equação:

$$\text{Erro Absoluto} = \text{Valor de referência} - \text{Valor medido}$$

Este foi calculado para cada um dos 13 sujeitos analisados, na análise dos dados referentes aos 4 protocolos adotados. Foi de seguida efetuada a determinação da mediana do erro absoluto, bem como da mediana do módulo do erro absoluto. Os resultados encontram-se expostos na tabela 5.8.

Tabela 5.8: Mediana do erro absoluto e mediana do módulo do erro absoluto na determinação de volumetria da carga lesional em cada protocolo de imagem adotado

	Volume Lesional	
	Mediana do erro	Mediana do módulo do erro
FLAIR+T1c	0,61 ml	1,35 ml
FLAIR+T1	1,17 ml	0,98 ml
FLAIRc+T1c	0,58 ml	1,28 ml
FLAIRc+T1	0,93 ml	0,99 ml

Na análise dos resultados obtidos é possível desde logo registar uma subestimativa de volumes por parte da ferramenta QuantEmTool relativamente aos valores de referência, devido ao facto de todos os valores de mediana do erro absoluto se apresentarem positivos. Ao mesmo tempo, a pouca variação dos valores relativos à mediana do módulo do erro absoluto comparativamente aos respetivos valores de mediana do erro absoluto indicam-nos que não se verifica uma grande dispersão na amostra.

O protocolo FLAIRc+T1c apresenta para esta análise o melhor resultado de mediana do erro, sendo que para o segundo indicador se destaca o seu complementar, o protocolo FLAIR+T1. Verifica-se ainda um ligeiro emparelhamento nos valores obtidos para os protocolos que partilham a mesma natureza de sequência de ponderação em T1. Estas diferenças não são no entanto muito significativas, observando-se também aqui uma uniformidade de resultados.

No estudo do cálculo do número de lesões recorreu-se à mesma análise efetuada para a determinação de volumetria da carga lesional. Os resultados referentes à aplicação do teste de Spearman apresentam-se na tabela 5.9.

Tabela 5.9: Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre a estimativa do número de lesões efetuada pela ferramenta QuantEmTool para cada protocolo de imagem e os valores de referência. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

Número de lesões QuantEmTool	Número de lesões Clínica	
	<i>valor p</i>	ρ
FLAIR+T1c	0,00010*	0,87348
FLAIR+T1	0,00015*	0,86155
FLAIRc+T1c	0,00062*	0,81897
FLAIRc+T1	0,00199*	0,77203

Apesar de não se terem obtido índices correlativos tão esclarecedores como os atingidos para a determinação de volumetria lesional, para todos os protocolos se registam *valores p* significativos e valores de ρ reveladores de uma correlação direta.

O protocolo FLAIR+T1c apresenta a melhor correlação com a referência, destacando-se por outro lado o protocolo FLAIRc+T1 como sendo o que revela piores indicadores para este teste. Interessante verificar que estes dois protocolos não incluem qualquer sequência em comum.

Os protocolos que incluem a sequência FLAIR sem contraste apresentam para esta análise os melhores valores de correlação.

Ainda para o cálculo de número de lesões, recorreu-se aos indicadores de mediana do erro e de mediana do módulo do erro, cujos resultados se exibem na tabela 5.10.

Tabela 5.10: Mediana do erro absoluto e mediana do módulo do erro absoluto na determinação do número de lesões em cada protocolo de imagem adotado

	Número de Lesões	
	Mediana do erro	Mediana do módulo do erro
FLAIR+T1c	1	5,50
FLAIR+T1	0	5,00
FLAIRc+T1c	0	5,00
FLAIRc+T1	-2	7,50

Contrariamente ao verificado na análise de volumetria lesional, não é possível denotar para o número de lesões qualquer tendência de sobre ou sub quantificação por parte da QuantEmTool relativamente à referência. O facto dos valores da mediana do módulo do erro absoluto se apresentarem discrepantes dos correspondentes valores de mediana do erro sugere a existência de uma dispersão da amostra em todos os protocolos. Por exemplo, nos protocolos FLAIR+T1 e FLAIRc+T1c, apenas uma sobre quantificação de magnitude igual a uma sub quantificação poderão explicar a obtenção de um valor nulo de mediana do erro ao mesmo tempo de um valor tão alto de mediana do módulo do erro (5,00).

Também para esta análise se regista uma uniformidade geral nos resultados, destacando-se particularmente a sequência FLAIRc+T1 pela negativa, ao apresentar uma tendência de sobre quantificação mais vincada e uma maior dispersão relativamente às restantes. O fenómeno de emparelhamento de resultados entre protocolos que partilham a mesma natureza de sequências de ponderação em T1 não se parece verificar para este caso.

5.2.4 Discussão

Na análise da adequação de protocolos imagiológicos à ferramenta QuantEmTool há primeiramente a destacar a uniformidade nos resultados obtidos para os testes de correlação de cada um dos indicadores com os valores de referência.

As diferenças entre as sequências de ponderação em T1 com e sem contraste nos resultados volumétricos reportadas na secção 5.1.1 foram de facto detetadas em grande parte dos resultados para o teste de Spearman, não se tendo revelado porém tão discrepantes quanto se esperava. O facto de em nenhum dos casos estudados se terem detetado lesões ativas (hiperintensidades na sequência T1 com contraste) poderá ter contribuído para esta menor variação.

Para a determinação da FPE os resultados mostraram-se bastante positivos, destacando-se o protocolo FLAIRc+T1 por apresentar os melhores índices correlativos. Para a FSC verificou-se uma fraca correlação com a referência para todos os protocolos, sugerindo que este indicador poderá não ser o mais adequado no estudo do nível de atrofia da SC.

Embora não seja possível efetuar uma comparação mais direta destes dois indicadores de atrofia, o facto dos valores de mediana do erro relativo (expostos na tabela 4.2 da secção 4.1.3.2) que foram obtidos para a determinação de SC e parênquima encefálico por parte do *script* SPM (que mais tarde viria a integrar a *pipeline* da ferramenta QuantEmTool) serem satisfatórios (4,12% para a determinação de SC e 1,16% para o parênquima encefálico) transmite uma certa segurança nos resultados obtidos para a FPE e FSC.

Os resultados de FPE e FSC obtidos para o sujeito controlo foram de 83,18% e 50,45%, respetivamente. O único artigo encontrado para a validação destes valores refere-se a um estudo que utiliza estes dois indicadores na análise de uma outra doença neurodegenerativa [31]. Recorrendo também ao método *Segment* do pacote de ferramentas SPM, os valores de controlo obtidos no dito estudo situam-se nos 82,5% para a FPE e 37,5% para a FSC. Mais uma vez a estimativa da atrofia de SC parece um pouco desviada. Há porém a salientar que a mediana de idades para este grupo de controlo se situa nos $57,1 \pm 19,2$ anos, algo que contrasta com os 19 anos do sujeito controlo deste estudo. Tendo em conta a influência deste fator na determinação dos níveis de atrofia em causa (descrita nas secções 2.4.1.1 e 2.4.1.3), conclui-se que os resultados obtidos se podem considerar satisfatórios.

Os resultados decorrentes do teste de Spearman no estudo dos dois indicadores de carga lesional revelaram fortes correlações, algo que valida a ferramenta QuantEmTool nesta análise em particular. Uma vez que os seus valores de referência se apresentam nas mesmas grandezas, foi possível recorrer ao erro absoluto por forma a realizar uma comparação mais direta dos valores obtidos.

Para este estudo detetou-se uma clara tendência de subestimativa do volume lesional por parte da ferramenta QuantEmTool, com resultados relativamente estáveis que rondam o valor de 1,5 ml. Esta diferença pode ser considerada irrelevante para doentes que apresentem um maior volume carga lesional (num dos casos em que se mediu um volume

de 30 ml, os 1,5 ml de desvio representam apenas um erro percentual de 5%), mas será certamente mais influente quando se lida com casos de volumes lesionais abaixo dos 10 ml.

Para a contagem de lesões os indicadores de mediana do erro absoluto e do seu módulo revelam um padrão algo instável, não sendo assim possível para já estabelecer uma tendência na quantificação da ferramenta desenvolvida.

A análise da quantificação da carga lesional por parte da ferramenta QuantEmTool poderia ter sido complementada através do estudo da correlação espacial entre os mapas lesionais obtidos pela ferramentas MSMetrix e QuantEmTool. Por razões que se prendem com a limitação de tempo este teste não foi efetuado, mas será certamente interessante para aferir as diferenças de estimativa entre os dois métodos.

Com base nos resultados obtidos, não é possível para já destacar um protocolo imagiológico que melhor se adequa à atuação da ferramenta QuantEmTool. A curta amostra a que se recorreu não permite ainda traçar um padrão geral na determinação de certos indicadores por parte desta ferramenta. Além disso, o facto de todos os casos apresentarem a mesma natureza de lesões (hiperintensidades em FLAIR) poderá justificar a estabilidade nos índices correlativos que se verificou para todos os protocolos.

Sabe-se, no entanto, que a ferramenta QuantEmTool não efetua para já o cálculo de lesões ativas. Uma vez que os resultados de correlação referentes à determinação dos 4 indicadores obtidos para a sequência de ponderação em T1 com contraste não se destacam particularmente em comparação com os obtidos pelos restantes protocolos, conclui-se que a sua utilização pode ser descartada para o uso da ferramenta em estudo. Seguindo a mesma linha de raciocínio, não se verifica também especial valia no uso da sequência FLAIR com contraste. Desta forma, para a atuação da ferramenta QuantEmTool o protocolo FLAIR+T1 poderá ser o mais adequado, uma vez que apresenta tanto valor como os restantes e não necessita de recorrer à utilização de agente contrastante, algo que permite reduzir o tempo de aquisição do exame e se traduz num maior conforto para o examinando.

Esta não será porém a solução mais realista. No meio clínico, a perspetiva única que a sequência T1c oferece ao médico, ao permitir identificar a presença de lesões ativas, faz com que este seja um recurso difícil de abdicar. Ainda que para os 20 sujeitos analisados neste estudo não se tenha detetado qualquer lesão desta natureza, a verdade é que o seu despiste se exigirá sempre na abordagem imagiológica a um doente de EM, pela importância que assume. A aquisição desta sequência em simultâneo com a T1s por forma a complementar o estudo da atrofia é uma hipótese a excluir, por implicar um acréscimo no tempo de exame que é demasiado incómodo para o doente.

A introdução da sequência FLAIRc em detrimento da FLAIRs, por outro lado, será algo que após os resultados da presente secção se poderá considerar mais seriamente. Desta forma, o exame imagiológico adotado pelo HEM beneficiaria em termos de tempo, ao aproveitar de forma mais eficiente a utilização de agente contrastante enquanto adquire o mesmo número de sequências, com a vantagem acrescida de obter igual fiabilidade de

resultados.

O estudo da utilidade das sequências FLAIR e T1 com contraste poderá ainda ser complementado e as presentes reflexões validadas com recurso à análise de mais casos de EM, que exibam nas suas imagens outras natureza de lesões, em especial lesões ativas. De momento e com base nos bons indicadores obtidos, o protocolo FLAIRc+T1c parece constituir uma solução bastante interessante na abordagem imagiológica à EM por parte do HEM.

De relevar ainda a importância que a versatilidade de adoção de protocolos assume na atuação das ferramentas de quantificação automática, algo que de resto a ferramenta MSMetrix já apresenta e que a QuantEmTool persegue, tendo obtido para já resultados que se podem considerar promissores.

5.3 Estudo de correlação com dados clínicos

Nesta última fase da presente dissertação procedeu-se a um estudo correlativo entre os dados obtidos pela ferramenta QuantEmTool e alguns dos indicadores presentes na ficha clínica dos casos estudados e que se conseguiram reunir em número suficiente para possibilitar a dita análise. Assim, estudou-se a influência dos seguintes indicadores clínicos:

- Idade;
- Anos de doença;
- Classificação na EDSS;
- Índice de vitamina D;
- Adoção de hábitos tabágicos.

Os dados relativos aos primeiros três indicadores citados foram reunidos para os 20 sujeitos analisados, sendo que a informação acerca dos hábitos tabágicos se restringe a um grupo de 16 sujeitos. O índice de vitamina D foi apenas registado para 9 sujeitos.

Para os quatro indicadores da ferramenta QuantEmTool recorreu-se sempre que possível aos dados calculados para o protocolo de imagem FLAIR+T1. Por apenas incluírem dados relativos ao protocolo FLAIR+T1c, os 7 sujeitos do grupo 1 constituem a exceção à regra.

5.3.1 Anos de doença, idade e classificação na EDSS

Foi primeiramente aplicado o teste de Spearman de forma a averiguar a possível existência de correlação entre cada um dos quatro indicadores determinados pela ferramenta QuantEmTool e os três primeiros fatores clínicos referidos. Para este teste optou-se por incluir o sujeito controlo, bem como as três diferentes variações de EM verificadas na amostra (conforme referido na secção 3.2, conta-se com 17 casos de surto-remissão, um caso de EM primariamente progressiva e um outro de secundariamente progressiva). Os resultados estão expostos na tabela 5.11.

Tabela 5.11: Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa entre os 4 indicadores estimados pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos de doença, idade e classificação na EDSS. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	Anos de Doença		Idade		EDSS	
	<i>valor p</i>	ρ	<i>valor p</i>	ρ	<i>valor p</i>	ρ
FPE	0,9272	-0,0218	0,0078*	-0,5768	0,0182*	-0,5224
FSC	0,1383	-0,3434	0,0005*	-0,7041	0,0037*	-0,6184
Volume lesional	0,0106*	0,5580	0,0362*	0,4706	0,0362*	0,4707
Número de Lesões	0,1136	0,3751	0,1426	0,3493	0,1512	0,3425

É possível observar valores significativos para grande parte dos indicadores estimados pela ferramenta QuantEmTool. O nível de atrofia cerebral e de SC mostram-se inversamente correlacionados tanto com a idade como com a classificação na EDSS. O volume de carga lesional constitui o único indicador que se apresenta correlacionado com todos os índices clínicos aqui estudados. Para a contagem do número de lesões não se verifica qualquer *valor p* significativo.

5.3.2 Vitamina D

O teste de Spearman foi de seguida aplicado na análise da influência do índice de vitamina D, num raciocínio análogo ao utilizado no estudo correlativo anterior. Foi ainda averiguada a existência de correlação deste indicador com a classificação na escala EDSS. Os resultados apresentam-se na tabela 5.12.

Tabela 5.12: Aplicação do teste de Spearman na análise correlativa do índice de vitamina D com os 4 indicadores estimados pela ferramenta QuantEmTool e a classificação na EDSS. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	Índice de Vitamina D	
	<i>valor p</i>	ρ
FPE	0,006*	-0,850
FSC	0,086	-0,617
Volume lesional	0,385	0,333
Número de Lesões	0,431	0,301
EDSS	0,064	0,639

Para este teste verifica-se apenas 1 valor significativo, indiciando a existência de uma forte correlação negativa entre a FPE e o nível de vitamina D. Para a FSC regista-se uma tendência para a existência de correlação negativa, embora o *valor p* registado não seja diminuto o suficiente para verificar significância. Para a correlação com a EDSS verifica-se uma situação semelhante, sugerindo os valores de ρ a existência de uma correlação direta com os índices de vitamina D.

Os resultados obtidos para a carga lesional medida são os que apresentam piores índices correlativos, indiciando, no entanto, a positividade dos valores de ρ uma tendência para a correlação direta.

5.3.3 Hábitos tabágicos

No estudo da influência dos hábitos tabágicos recorreu-se ao teste de Mann-Whitney de forma a aferir possíveis diferenças entre os dados referentes a doentes fumadores e a doentes que não adotam este hábito. Além dos 4 indicadores relativos à determinação de atrofia e de carga lesional efetuada pela ferramenta QuantEmTool, foram também comparadas as classificações na escala EDSS. Os resultados apresentam-se na tabela 5.13.

Tabela 5.13: Aplicação do teste de Mann-Whitney na análise de diferenças entre grupos de doentes fumadores e não fumadores na estimativa da FPE, FSC, volume lesional e número de lesões por parte da ferramenta QuantEmTool, bem como na sua classificação na EDSS. Um *valor p* significativo, ou seja, inferior a 0,05 (5%), é sinalizado por meio de um asterisco.

	Hábitos tabágicos
	<i>valor p</i>
FPE	0,865
FSC	0,532
Volume lesional	0,451
Número de lesões	1,000
EDSS	0,9541

Como se pode observar, não se registou para esta análise a existência de quaisquer diferenças significativas entre os grupos de fumadores e não fumadores. Em particular para a estimativa do número de lesões o resultado de *valor p* apresenta-se bastante esclarecedor, algo que também parece ocorrer para os indicadores de FPE e EDSS.

O *valor p* mais baixo observa-se para a estimativa do volume lesional e FSC, encontrando-se ainda assim bastante afastados da significância.

5.3.4 Discussão

No estudo de correlação com os dados clínicos da amostra foi possível obter alguns resultados interessantes.

Para a primeira análise realizada destacam-se os índices obtidos pelo volume lesional medido, ao exibirem uma correlação positiva com a idade, anos de doença e classificação na EDSS. A idade e classificação na EDSS exibiram também correlações com a FPE e a FSC, não se verificando no entanto valores de ρ reveladores da mesma tendência para os anos de progressão da doença.

O número de lesões revelou os piores índices correlativos, sugerindo assim que este não será um fator que permita prever padrões de evolução da doença. O facto da avaliação da sua estimativa realizada na secção 5.2.3 não ter também apresentado resultados esclarecedores poderá explicar a inexistência de correlação verificada.

O melhor valor de ρ registado foi de 0,7041, tendo-se verificado na correlação entre a idade e a FSC. Os valores de ρ não foram assim tão altos quanto se esperaria. No entanto, a falta de proximidade do valor unitário para este indicador correlativo poderá sugerir que a correspondência dos valores estimados pela ferramenta QuantEmTool com estes dados clínicos dos doentes deverá ser feita de uma forma transversal, recorrendo simultaneamente aos indicadores de atrofia e volume lesional. Assim, por exemplo, poderemos esperar uma maior classificação na escala EDSS se nos depararmos com índices de atrofia cerebral e de substância cinzenta mais baixos e ao mesmo tempo verificarmos elevados valores de volumetria de carga lesional. A análise com estes dados clínicos revelou-se ainda assim bastante satisfatória, tendo-se conseguido provar o potencial que esta pode oferecer no estudo da EM.

No que diz respeito aos índices correlativos no estudo da influência da vitamina D, os resultados mostraram-se inconsistentes com o previsto na bibliografia consultada ([17, 18]). O facto da amostra na qual esta análise se sustenta ser particularmente reduzida poderá justificar os resultados obtidos.

Também na análise da influência da adoção de hábitos tabágicos não foram atingidas as mesmas conclusões verificadas em alguns dos artigos consultados ([18, 19]). Os valores p obtidos para o teste de Mann-Whitney revelaram-se bastante elevados, não indiciando qualquer diferença entre o grupo de fumadores e não fumadores. A eventual variabilidade no grau de consumo poderá ser aqui um fator particularmente influente.

Pretendia-se também nesta secção estudar a influência da menopausa nos indicadores estimados pela ferramenta QuantEmTool, bem como averiguar as diferenças entre as variações da EM. Esta análise não foi, no entanto, efetuada devido ao insuficiente número de dados reunidos.

Devido a limitações de tempo não foi também possível recorrer a uma análise multivariada no estudo correlativo entre os indicadores clínicos e a classificação na EDSS, algo que seria importante na complementação desta avaliação.

Para a obtenção de padrões correlativos mais estáveis e que permitam retirar conclusões mais seguras deverá proceder-se a uma análise de uma amostra maior e mais diversa.

CONCLUSÕES E PERSPETIVAS FUTURAS

No âmbito da presente dissertação foi desenvolvida uma ferramenta de quantificação da carga lesional e atrofia cerebral em Imagens de Ressonância Magnética (IRM) cerebrais, a ser integrada no serviço de neurorradiologia do Hospital Egas Moniz (HEM) por forma a complementar a avaliação de doentes ou mesmo casos suspeitos de Esclerose Múltipla (EM). A ferramenta desenvolvida, de nome QuantEmTool, permite estimar a volumetria da carga lesional e o número de lesões em imagens FLAIR, possibilitando ainda um estudo do nível de atrofia cerebral com base no cálculo do volume da Substância Branca (SB), Substância Cinzenta (SC) e Líquido cefalorraquidiano (LCR) e dos indicadores de Fração do parênquima encefálico (FPE) e Fração de Substância Cinzenta (FSC). No final da atuação da ferramenta é gerado um relatório em formato HTML contendo os resultados decorrentes das quantificações.

Na análise à atuação da ferramenta desenvolvida foi estudada a submissão de 4 protocolos imagiológicos distintos, baseando-se na combinação de 4 sequências: FLAIR *Cube* sem contraste (FLAIRs), FLAIR *Cube* com contraste (FLAIRc), T1 3D sem contraste (T1s) e T1 3D com contraste (T1c). No decurso do trabalho efetuou-se ainda uma mudança dos parâmetros imagiológicos da sequência de ponderação em T1, por forma a diminuir a influência de algum ruído que se observava nas respetivas imagens.

Após uma avaliação das diferenças entre estimações volumétricas, observou-se uma ligeira discrepância entre protocolos que confrontavam as sequências de ponderação em T1 com e sem contraste. Porém, o estudo comparativo com os valores de referência revelou indicadores bastante uniformes mesmo para estes protocolos, tendo-se obtido resultados particularmente satisfatórios na determinação da FPE e de volumetria da carga lesional em FLAIR. Estas diferenças entre estimativas teriam certamente sido potenciadas se na amostra estudada se incluíssem doentes com outra natureza de carga lesional, mais especificamente de carga lesional ativa. Tendo em conta esta limitação da amostra, não

foi possível estudar os protocolos que incluem as sequências T1c e FLAIRc em todo o seu potencial, pelo que é ainda incerto o protocolo que melhor se adequa à ferramenta QuantEmTool. Destaca-se ainda assim em particular o protocolo FLAIRc+T1c, por aliar aos resultados satisfatórios estimados pela ferramenta desenvolvida (numa tendência semelhante à verificada para os restantes protocolos) a vantagem de permitir uma diminuição do tempo total do exame imagiológico, conseguindo ainda complementar a análise QuantEmTool por meio da deteção de lesões ativas.

Numa fase final do trabalho foi efetuado um estudo correlativo entre os indicadores de quantificação de atrofia e carga lesional estimados pela ferramenta QuantEmTool e alguns dados relativos à ficha clínica de cada um dos 20 sujeitos analisados, tendo-se registado indicadores bastante interessantes que sugerem uma relação entre a idade, anos de doença, classificação na EDSS e os valores de volumetria de carga lesional, FPE e FSC estimados. Os resultados menos positivos obtidos dizem respeito aos índices correlativos do número de lesões, bem como ao estudo da influência do índice de vitamina D e hábitos tabágicos, para o qual os resultados se revelaram inconsistentes com os reportados pela bibliografia consultada.

Identificam-se claramente diversos aspetos a melhorar na ferramenta de análise desenvolvida. Desde logo a sua validação para uma amostra maior e mais heterogênea em termos de carga lesional considera-se bastante importante, ao permitir uma análise estatística de resultados mais consistente que possa delinear padrões concretos e assim retirar conclusões mais seguras. No enriquecimento da análise QuantEmTool conta-se ainda com a deteção de lesões de outra natureza, a introdução dos intervalos normais de FPE e FSC para a avaliação da atrofia, a inserção de resultados visuais da segmentação de lesões e a otimização dos *scripts* de análise volumétrica. O desenvolvimento de *scripts* da biblioteca SPM (categoria na qual o pacote de ferramentas LST se inclui) possibilitou a tradução do funcionamento das suas interfaces para a linguagem de comandos *bash*. Estabelecida a ponte entre estas duas formas de aplicação dos algoritmos, torna-se agora mais fácil a exploração das suas diferentes variantes e respetivo efeito que estas imprimem nos resultados. A *pipeline* da ferramenta QuantEmTool constitui assim uma base que poderá e deverá ser adequada ao nível das necessidades da prática clínica.

BIBLIOGRAFIA

- [1] W. M. Zawada PhD e J. J. Campanella PhD, “Multiple sclerosis”, *Magill’s Medical Guide (Online Edition)*, 2013.
- [2] A. Pietrangelo e V. Higuera, *Multiple sclerosis: statistics, facts and you*. endereço: <http://www.healthline.com/health/multiple-sclerosis/facts-statistics-infographic> (acedido em 09/02/2016).
- [3] K.-O. Lövblad, N Anzalone, A Dörfler, M Essig, B Hurwitz, L. Kappos, S.-K. Lee, M. Filippi, J. H. Simon, D. Li, A. Traboulsee, P. K. Coyle, D. L. Arnold, F. Barkhof, J. A. Frank, R. Grossman, D. W. Paty, E. W. Radue e J. S. Wolinsky, “Mr imaging in multiple sclerosis: review and recommendations for current practice.”, *American Journal of Neuroradiology*, vol. 27, nº 6, pp. 983–89, 2010.
- [4] F. Cotton, S. Kremer, S. Hannoun et al., “Ofsep, a nationwide cohort of people with multiple sclerosis: consensus minimal mri protocol”, *Journal of Neuroradiology*, vol. 42, nº 3, pp. 133–40, 2015.
- [5] H. Vrenken, M. Jenkinson, M. A. Horsfield, M. Battaglini, R. A. Van Schijndel, E. Rostrup, J. J. G. Geurts, E. Fisher, A. Zijdenbos, J. Ashburner, D. H. Miller, M. Filippi, F. Fazekas, M. Rovaris, A. Rovira, F. Barkhof e N. De Stefano, “Recommendations to improve imaging and analysis of brain lesion load and atrophy in longitudinal studies of multiple sclerosis”, *Journal of Neurology*, vol. 260, nº 10, pp. 2458–2471, 2013.
- [6] C. Tur, X. Montalban, M. Tintoré, C. Nos, J. Río, F. X. Aymerich, L. Brieva, N. Téllez, H. Perkal, M. Comabella, I. Galán, D. Calle, J. Sastre-Garriga e A. Rovira, “Interferon beta-1b for the treatment of primary progressive multiple sclerosis: five-year clinical trial follow-up.”, *Archives of neurology*, vol. 68, nº 11, pp. 1421–7, 2011.
- [7] S. Jain, D. M. Sima, A. Ribbens, M. Cambron, A. Maertens, W. Van Hecke, J. De Mey, F. Barkhof, M. D. Steenwijk, M. Daams, F. Maes, S. Van Huffel, H. Vrenken e D. Smeets, “Automatic segmentation and volumetry of multiple sclerosis brain lesions from mr images”, *NeuroImage: Clinical*, vol. 16, nº 8, pp. 367–75, 2015.
- [8] D. Nachum, *Overview of the nervous system (section 2, chapter 1) neuroscience online: an electronic textbook for the neurosciences | department of neurobiology and anatomy - the university of texas medical school at houston*, 2016. endereço: <http://neuroscience.uth.tmc.edu/s2/chapter01.html> (acedido em 09/02/2016).

- [9] Houston, *Anatomy of the spinal cord (section 2, chapter 3) neuroscience online: an electronic textbook for the neurosciences | department of neurobiology and anatomy*, 2014. endereço: <http://neuroscience.uth.tmc.edu/s2/chapter03.html> (acedido em 06/02/2016).
- [10] D. Nachum, *Neuroanatomy online: an open access electronic laboratory for the neurosciences | introduction - overview of the nervous system*, 2016. (acedido em 07/02/2016).
- [11] *Forebrain* -. endereço: <http://www.brainexplorer.org/global/brain-atlas/forebrain> (acedido em 07/02/2016).
- [12] *Powerpoint image bank | servier*. endereço: <http://www.servier.com/Powerpoint-image-bank> (acedido em 09/02/2016).
- [13] C Pfuhl, J Oechtering, L Rasche, G. RM, B. JR, K Wakonig, E Freitag, P. FC, C Otto, J Hofmann, B Eberspächer, J Bellmann-Strobl, F Paul e K Ruprecht, "Association of serum epstein-barr nuclear antigen-1 antibodies and intrathecal immunoglobulin synthesis in early multiple sclerosis.", *Journal of Neuroimmunology*, vol. 285, pp. 156–160, 2015.
- [14] *Spem - sociedade portuguesa de esclerose múltipla - tipos de em*. endereço: <http://www.spem.pt/esclerose-multipla/tipologia> (acedido em 07/02/2016).
- [15] MS Trust, *Expanded disability status scale (edss)*, 2012. endereço: <https://www.ms-trust.org.uk/a-z/expanded-disability-status-scale-edss> (acedido em 09/02/2016).
- [16] D. Golan, E. Staun-ram, L. Glass-marmor, I. Lavi, O. Rozenberg, S. Dishon, M. Barak, S. Ish-shalom e A. Miller, "The influence of vitamin d supplementation on melatonin status in patients with multiple sclerosis", *Brain Behavior and Immunity*, vol. 32, pp. 180–5, 2013.
- [17] S. Hewer, R. Lucas, I. V. D. Mei e B. V. Taylor, "Vitamin d and multiple sclerosis.", *Journal of Clinical Neuroscience*, vol. 20, n° 5, pp. 634–41, 2013.
- [18] M. Kinga e R. Balasa, "Relapsing-remitting multiple sclerosis", vol. 25, 2015.
- [19] J. Öckinger, M. Hagemann-jensen, S. Kullberg, B. Engvall, A. Eklund, J. Grunewald, F. Piehl, T. Olsson e J. Wahlström, "T-cell activation and hla-regulated response to smoking in the deep airways of patients with multiple sclerosis", *Clinical Immunology*, vol. 169, pp. 114–120, 2016.
- [20] M. S. Christianson, V. A. Mensah e W. Shen, "Multiple sclerosis at menopause: potential neuroprotective effects of estrogen.", *Maturitas*, vol. 80, n° 2, pp. 133–9, 2015.
- [21] R Bove, B. C. Healy, E Secor, T Vaughan, B Katic, T Chitnis, P Wicks e P. L. D. Jager, "Patients report worse ms symptoms after menopause: findings from an online cohort", *Multiple Sclerosis and Related Disorders*, vol. 4, n° 1, pp. 18–24, 2015.

-
- [22] N. I. o. B. Imaging, *Magnetic resonance imaging (mri) | national institute of biomedical imaging and bioengineering*, 2015. endereço: <http://www.nibib.nih.gov/science-education/science-topics/magnetic-resonance-imaging-mri> (acedido em 08/02/2016).
- [23] *Nuclear magnetic resonance*, 2006. endereço: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781847555236> (acedido em 09/02/2016).
- [24] D. Hoa, *Imaios - linear trajectory through k-space*. endereço: <https://www.imaio.com/en/e-Courses/e-MRI/The-Physics-behind-it-all/K-space-linear-filling> (acedido em 09/02/2016).
- [25] Peter A. Rinck, *Fundamentals of image characteristics -the mr image*, 2016. endereço: <http://www.magnetic-resonance.org/ch/09-01.html> (acedido em 29/07/2016).
- [26] D. Hoa, *Imaios - interpreting spatial encoding in mri*, 2016. endereço: <https://www.imaio.com/en/e-Courses/e-MRI/Signal-spatial-encoding/Interpreting-spatial-encoding-in-MRI> (acedido em 09/02/2016).
- [27] *Image contrast*. endereço: <http://mrishark.com/image-contrast.html> (acedido em 11/02/2016).
- [28] *Home - pmc - ncbi*. endereço: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ezproxy.ulb.ac.be/pmc/> (acedido em 09/02/2016).
- [29] M. P. Wattjes, M. D. Steenwijk e M. Stangel, "Mri in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis: an update", *Clinical Neuroradiology*, vol. 25, pp. 157–165, 2015.
- [30] C. H. Polman, S. C. Reingold, B. Banwell, M. Clanet, J. A. Cohen, M. Filippi, K. Fujihara, E. Havrdova, M. Hutchinson, L. Kappos, F. D. Lublin, X. Montalban, P. O'Connor, M. Sandberg-Wollheim, A. J. Thompson, E. Waubant, B. Weinshenker e J. S. Wolinsky, "Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the mcdonald criteria", *Annals of Neurology*, vol. 69, nº 2, pp. 292–302, 2011.
- [31] V. Rajagopalan e E. P. Pioro, "Brain parenchymal fraction: a relatively simple mri measure to clinically distinguish als phenotypes", *BioMed Research International*, vol. 2015, 2015.
- [32] M. D. Phillips, R. I. Grossman, Y. Miki, L. Wei, D. L. Kolson, M. A. Van Buchem, M. Polansky, J. C. McGowan e J. K. Udupa, "Comparison of t2 lesion volume and magnetization transfer ratio histogram analysis and of atrophy and measures of lesion burden in patients with multiple sclerosis", *American Journal of Neuroradiology*, vol. 19, nº 6, pp. 1055–1060, 1998.
- [33] M. Vågberg, T. Lindqvist, K. Ambarki, J. B. M. Warntjes, P. Sundström, R. Birgander e A. Svenningsson, "Automated determination of brain parenchymal fraction in multiple sclerosis", *American Journal of Neuroradiology*, vol. 34, nº 3, pp. 498–504, 2013.

- [34] R. A. Rudick, E. Fisher, J. Lee, J. Simon e L. Jacobs, "Use of the brain parenchymal fraction to measure whole brain atrophy in relapsing-remitting ms. multiple sclerosis collaborative research group.", *Neurology*, vol. 53, nº 8, pp. 1698–704, 1999.
- [35] E. L. G. E. Koedam, M. Lehmann, W. M. Van Der Flier, P. Scheltens, Y. A. L. Pijnenburg, N. Fox, F. Barkhof e M. P. Wattjes, "Visual assessment of posterior atrophy development of a mri rating scale", *European Radiology*, vol. 21, nº 12, pp. 2618–25, 2011.
- [36] D. Smeets, A. Ribbens, D. M. Sima, M. Cambron, D. Horakova, S. Jain, A. Maertens, E. V. Vlierberghe e V. Popescu, "Reliable measurements of brain atrophy in individual patients with multiple sclerosis", *Brain and Behaviour*, vol. 6, nº 9, 2016.
- [37] J. J. Geurts e F. Barkhof, "Grey matter pathology in multiple sclerosis", *The Lancet Neurology*, vol. 7, nº 9, pp. 841–51, 2008.
- [38] Y. Ge, R. I. Grossman, J. S. Babb, M. L. Rabin, L. J. Mannon e D. L. Kolson, "Age-related total gray matter and white matter changes in normal adult brain. part i: volumetric mr imaging analysis.", *American Journal of Neuroradiology*, vol. 23, nº 8, pp. 1327–33, 2002.
- [39] C. Thaler, T. Faizy, J. Sedlacik, B. Holst, J.-p. Stellmann, K. L. Young, C. Heesen, J. Fiehler e S. Siemonsen, "T1- thresholds in black holes increase clinical-radiological correlation in multiple sclerosis patients", *PLOS ONE*, vol. 10, nº 12, pp. 1–14, 2015.
- [40] X. Lladó, A. Oliver, M. Cabezas, J. Freixenet, J. C. Vilanova, A. Quiles, L. Valls, L. Ramió-Torrent e L. Rovira, "Segmentation of multiple sclerosis lesions in brain mri: a review of automated approaches", *Information Sciences*, vol. 186, nº 1, pp. 164–185, 2012.
- [41] H. Kataoka, T. Taoka e S. Ueno, "Early contrast-enhanced magnetic resonance imaging with fluid-attenuated inversion recovery in multiple sclerosis.", *Journal of Neuroimaging*, vol. 19, nº 3, pp. 246–9, 2009.
- [42] E. K. Lee, E. J. Lee, S. Kim e Y. S. Lee, "Importance of contrast-enhanced fluid-attenuated inversion recovery magnetic resonance imaging in various intracranial pathologic conditions", *Korean Journal of Radiology*, vol. 17, nº 1, pp. 127–141, 2016.
- [43] *Optimizing neurotherapy for multiple sclerosis and parkinsons disease applying science, expert analysis, guidelines, and landmark trials to the front.* endereço: <http://slideplayer.com/slide/678042/> (acedido em 09/02/2016).
- [44] Y. Wu, S. K. Warfield, I. L. Tan, M. W. Iii, D. S. Meier, R. A. V. Schijndel, F. Barkhof e C. R. G. Guttmann, "Automated segmentation of multiple sclerosis lesion subtypes with multichannel mri", vol. 32, pp. 1205–1215, 2006.
- [45] A. F. Atiya, "Estimating the posterior probabilities using the k-nearest neighbor rule.", *Neural computation*, vol. 17, nº 3, pp. 731–40, 2005.

- [46] J. Souplet, C. Lebrun, N. Ayache e G. Malandain, “An automatic segmentation of t2-flair multiple sclerosis lesions”, *The MIDAS Journal - MS Lesion Segmentation Challenge (MICCAI 2008 Workshop)*, pp. 1–11, 2008.
- [47] G.-R. Kwon, D. Basukala, S.-W. Lee, K. H. Lee e M. Kang, “Brain image segmentation using a combination of expectation-maximization algorithm and watershed transform”, *International Journal of Imaging Systems and Technology*, vol. 26, n° 3, pp. 225–232, 2016.
- [48] N. Shiee, P.-L. Bazin, A. Ozturk, D. S. Reich, P. A. Calabresi e D. L. Pham, “A topology-preserving approach to the segmentation of brain images with multiple sclerosis lesions.”, *NeuroImage*, vol. 49, n° 2, pp. 1524–1535, 2010.
- [49] P. Schmidt, C. Gaser, M. Arsic, D. Buck, A. Firschl, A. Berthele, M. Hoshi, R. Ilg, V. J. Schmid, C. Zimmer, B. Hemmer e M. Mhlau, “An automated tool for detection of flair-hyperintense white-matter lesions in multiple sclerosis”, *NeuroImage*, vol. 59, n° 4, pp. 3774–3783, 2012.
- [50] M. Cabezas, A. Oliver, S. Valverde, B. Beltran, J. Freixenet, J. C. Vilanova, L. Ramió-Torrentà, A. Rovira e X. Lladó, “Boost: a supervised approach for multiple sclerosis lesion segmentation.”, *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 237, pp. 108–117, 2014.
- [51] J. Ashburner e K. J. Friston, “Unified segmentation”, *NeuroImage*, vol. 26, n° 3, pp. 839–51, 2005.
- [52] S. M. Smith, “Fast robust automated brain extraction”, *Human Brain Mapping*, vol. 17, n° 3, pp. 143–155, 2002.
- [53] M. Cabezas, A. Oliver, E. Roura, J. Freixenet, J. C. Vilanova, L. Ramió-Torrentà, À. Rovira e X. Lladó, “Automatic multiple sclerosis lesion detection in brain mri by flair thresholding”, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 115, n° 3, pp. 147–161, 2014.
- [54] F Klauschen, A Goldman, V Barra, A Meyer-Lindenberg e A Lundervold, “Evaluation of automated brain mr image segmentation and volumetry methods”, *Human Brain Mapping*, vol. 30, n° 4, pp. 1310–27, 2009.
- [55] S. Valverde, A. Oliver e X. Lladó, “A white matter lesion-filling approach to improve brain tissue volume measurements.”, *NeuroImage. Clinical*, vol. 6, pp. 86–92, 2014.
- [56] A. Rosset, L. Spadola e O. Ratib, “Osirix: an open-source software for navigating in multidimensional dicom images”, *Journal of Digital Imaging*, vol. 17, n° 3, pp. 205–216, 2004.
- [57] Pixmeo, *Github - osirix plugins*, 2014. endereço: <https://github.com/pixmeo/osirixplugins> (acedido em 31/08/2016).
- [58] Mathworks, *Dicom to nifti converter*, 2016. endereço: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/42997-dicom-to-nifti-converter--nifti-tool-and-viewer> (acedido em 31/08/2016).

- [59] —, *Tools for nifti and analyze images*, 2005. endereço: <https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/8797-tools-for-nifti-and-analyze-image> (acedido em 31/08/2016).
- [60] W. Penny, K. Friston, J. Ashburner, S. Kiebel e T. Nichols, *Statistical Parametric Mapping: The analysis of Functional Brain Images*, 1st, W. Penny, K. Friston, J. Ashburner, S. Kiebel e T. Nichols, eds. Elsevier Ltd, 2007.
- [61] *Spm12*, 2014. endereço: <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/software/spm12/> (acedido em 29/08/2016).
- [62] A Collignon, F Maes, D Delaere, D Vandermeulen, P Suetens e G Marchal, “Automated multi-modality image registration based on information theory”, *Information processing in medical imaging*, vol. 3, n° 6, pp. 263–274, 1995.
- [63] M. Jenkinson, *Fsl*. endereço: <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/> (acedido em 29/08/2016).
- [64] M. Jenkinson e S. Smith, “A global optimisation method for robust affine registration of brain images”, *Medical Image Analysis*, vol. 5, n° 2, pp. 143–56, 2001.
- [65] M. Jenkinson, P. Bannister, M. Brady e S. Smith, “Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images”, *NeuroImage*, vol. 17, n° 2, pp. 825–41, 2002.
- [66] Y. Zhang, M. Brady e S. Smith, “Segmentation of brain mr images through a hidden markov random field model and the expectation-maximization algorithm”, *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 20, n° 1, pp. 45–57, 2001.
- [67] A. P. Lysandropoulos, J. Absil, T. Metens, N. Mavroudakis, F. Guisset, E. Van Vlierberghe, D. Smeets, P. David, A. Maertens e W. Van Hecke, “Quantifying brain volumes for multiple sclerosis patients follow-up in clinical practice - comparison of 1.5 and 3 tesla magnetic resonance imaging”, *Brain and Behavior*, vol. 6, n° 2, 2016.
- [68] *The r project for statistical computing*, 2015. endereço: <https://www.r-project.org/> (acedido em 10/09/2016).
- [69] M. Friedman, “The use of ranks to avoid the assumption of normality implicit in the analysis of variance”, *Journal of the American Statistical Association*, vol. 32, n° 200, pp. 675–701, 1937.
- [70] A. E. Bargagliotti e R. N. Greenwell, “Combinatorics and statistical issues related to the kruskal-wallis statistic”, *Communications in Statistics - Simulation and Computation*, vol. 44, n° 2, pp. 533–550, 2015.
- [71] M. P. Fay e M. A. Proschan, “Wilcoxon-mann-whitney or t-test? on assumptions for hypothesis tests and multiple interpretations of decision rules”, *Statistics Surveys*, vol. 4, pp. 1–39, 2010.

- [72] J. Durnez, B. Moerkerke e T. E. Nichols, "Post-hoc power estimation for topological inference in fmri", *NeuroImage*, vol. 84, pp. 45–64, 2014.
- [73] P. E. Shrout e J. L. Fleiss, "Intraclass correlations: uses in assessing rater reliability.", *Psychological Bulletin*, vol. 86, n° 2, pp. 420–428, 1979.
- [74] s. Dogan e N. Dogan, "Usage of the intraclass correlation coefficient as a measure of dependence in dyadic data: review", *Turkiye Klinikleri Journal of Biostatistics*, vol. 7, n° 2, pp. 119–125, 2015.
- [75] R. Zaki, A. Bulgiba e N. A. Ismail, "Testing the agreement of medical instruments: overestimation of bias in the bland-altman analysis", *Preventive Medicine*, vol. 57, n° SUPPL, S80–S82, 2013.
- [76] W.-y. Zhang, Z.-w. Wei, B.-h. Wang e X.-p. Han, "Measuring mixing patterns in complex networks by spearman rank correlation coefficient", *Physica A - Statistical Mechanics and its Applications*, vol. 451, pp. 440–450, 2016.

A P Ê N D I C E



**RELATÓRIOS DE OUTRAS FERRAMENTAS
UTILIZADAS**

Lesion segmentation by LST

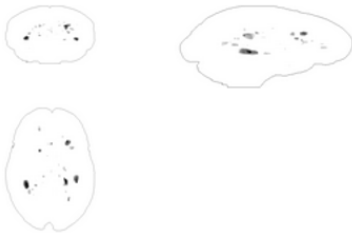
Input summary

Date of analysis	26-Sep-2016 23:41:16
Algorithm used for segmentation	LGA
T1 image	tlq[redacted].nii
FLAIR image	flair[redacted].nii
Initial threshold (kappa)	0.3
MRF parameter	1
Maximum iterations	50

Results

Number of iterations	50
Lesion map	ples_lga_0.3_rmflairQuant_Em_20.nii
Lesion volume	13.8385 ml
Number of lesions	19

Lesion location



Overlay

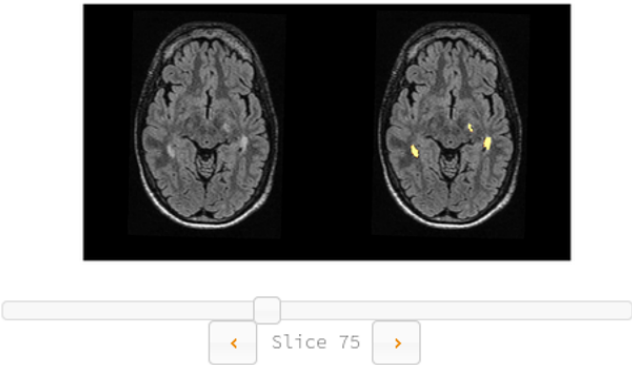


Figura A.1: Relatório da ferramenta LST

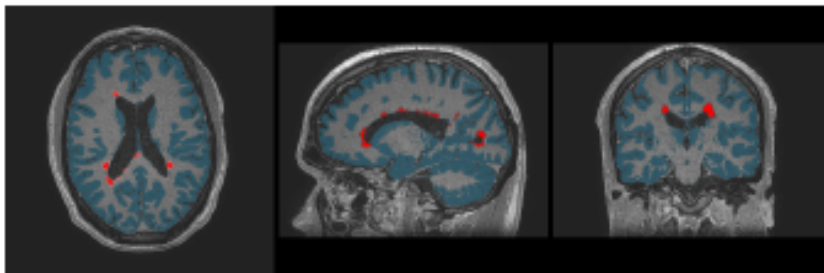
PATIENT

NAME	ID	DATE OF BIRTH	MRI DATE
██████████	0290044735_160630_160630	1972-10-04	2016-06-30 15:16:55

1. QC

QC status	Remarks
Approved	No remarks.

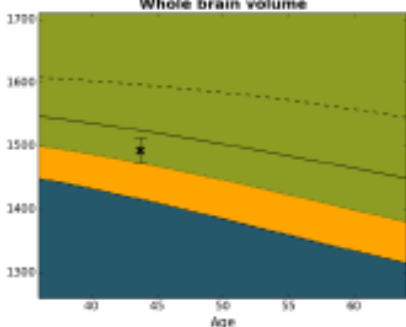
2. VISUAL RESULTS



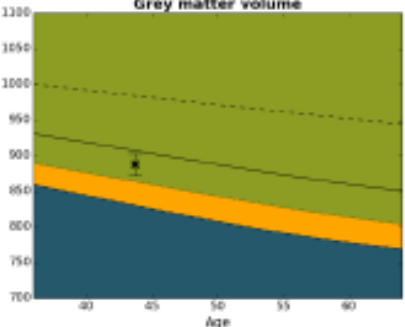
3. BRAIN VOLUMES

Brain structure	Volume	Normal range (1st and 99th percentile)	Normative percentile
Whole brain volume	1492 ml*	1415-1596 ml*	20.4
Grey matter volume	887 ml*	830-983 ml*	30.5

Whole brain volume



Grey matter volume



* Displayed brain volumes are normalised for head size. The normalisation factor for this patient equals 0.86.

4. LESION LOAD

Type	Lesion volume
FLAIR lesions	11.9 ml
Gd enhanced lesions	0.0 ml

Figura A.2: Exemplo de relatório MSMetrix. Possui um espaço para observações, outro para o resultado visual da segmentação, outro para a análise volumétrica e um último para a análise de carga lesional.

UTILIZAÇÃO DA FERRAMENTA QUANTEmTOOL

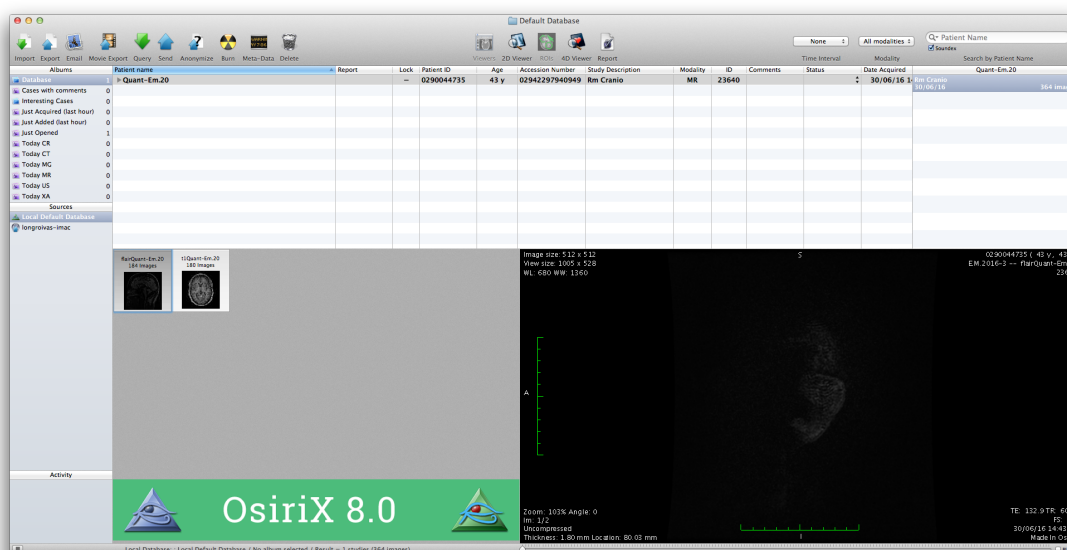


Figura B.1: Ambiente OsiriX contendo uma sequência volumétrica FLAIR e outra com ponderação em T1

APÊNDICE B. UTILIZAÇÃO DA FERRAMENTA QUANTEMTOOL

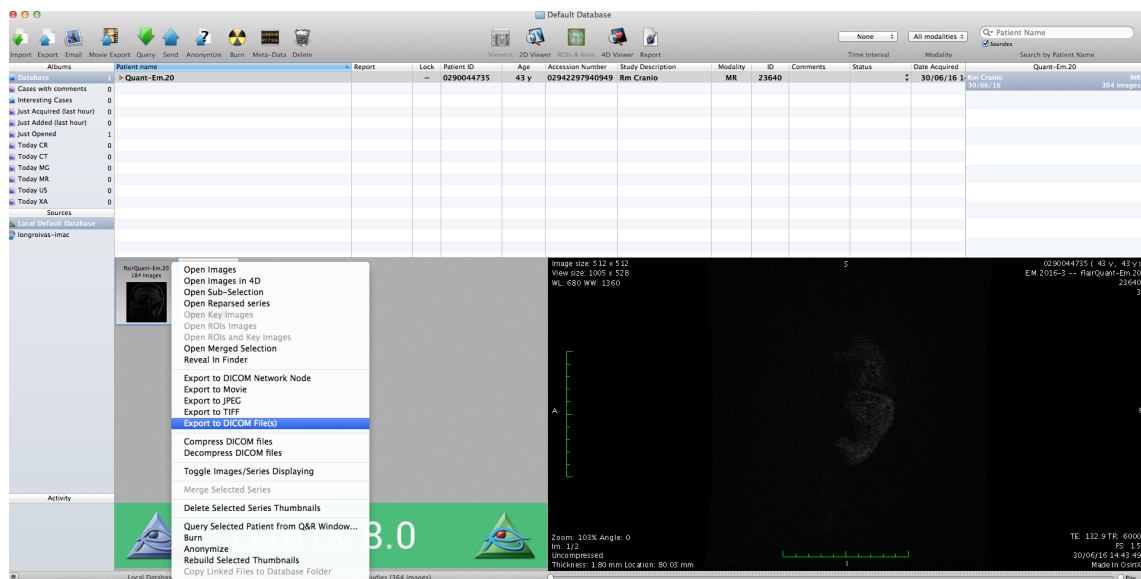


Figura B.2: Exportação das imagens DICOM relativas à sequência FLAIR

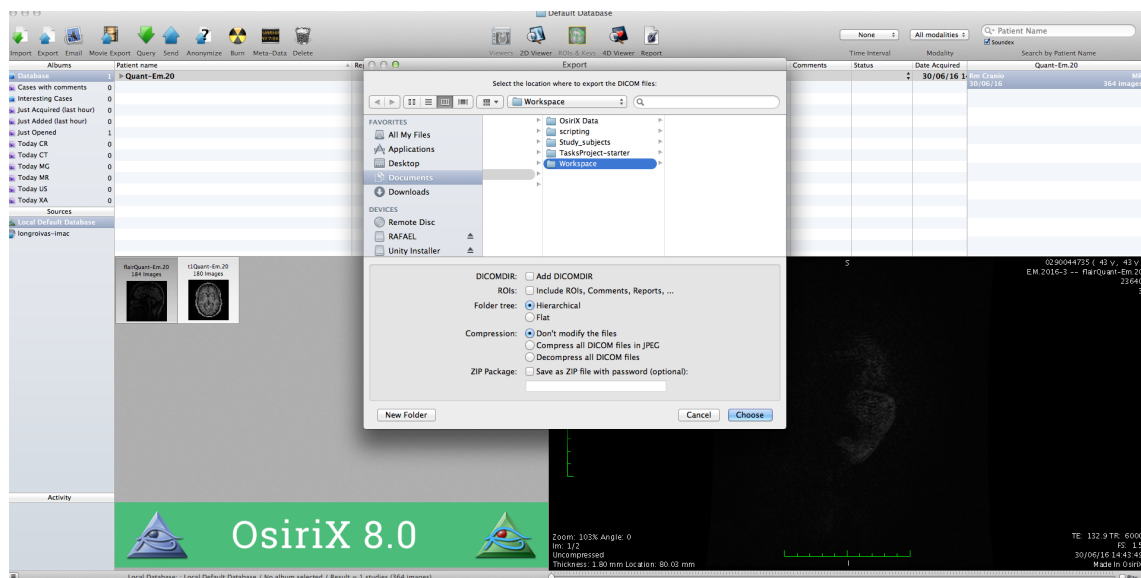


Figura B.3: Exportação das imagens DICOM relativas à sequência FLAIR - Seleção da pasta de destino *Workspace*

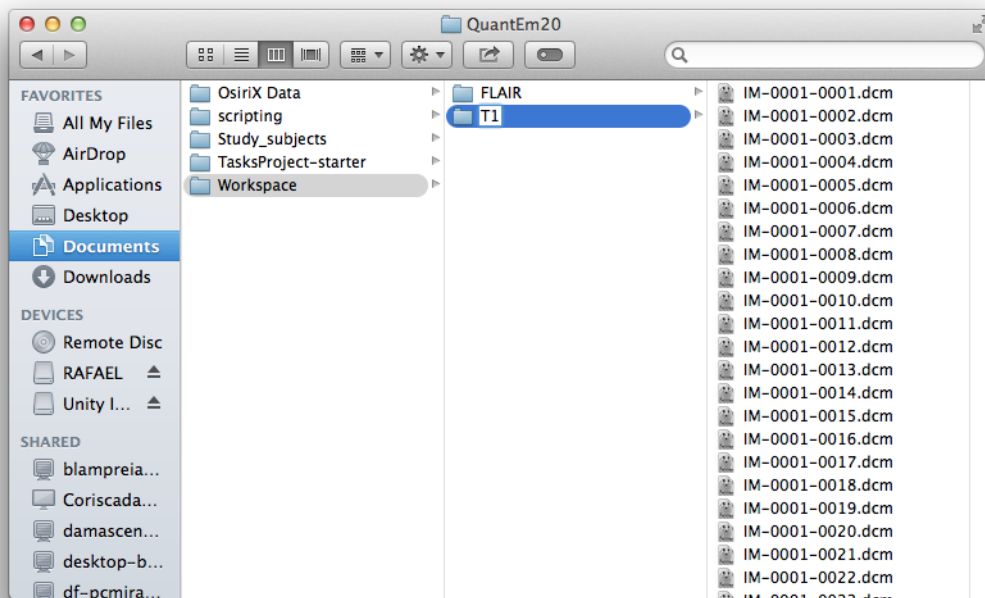


Figura B.4: Alteração dos nomes das pastas relativas às sequências FLAIR e T1

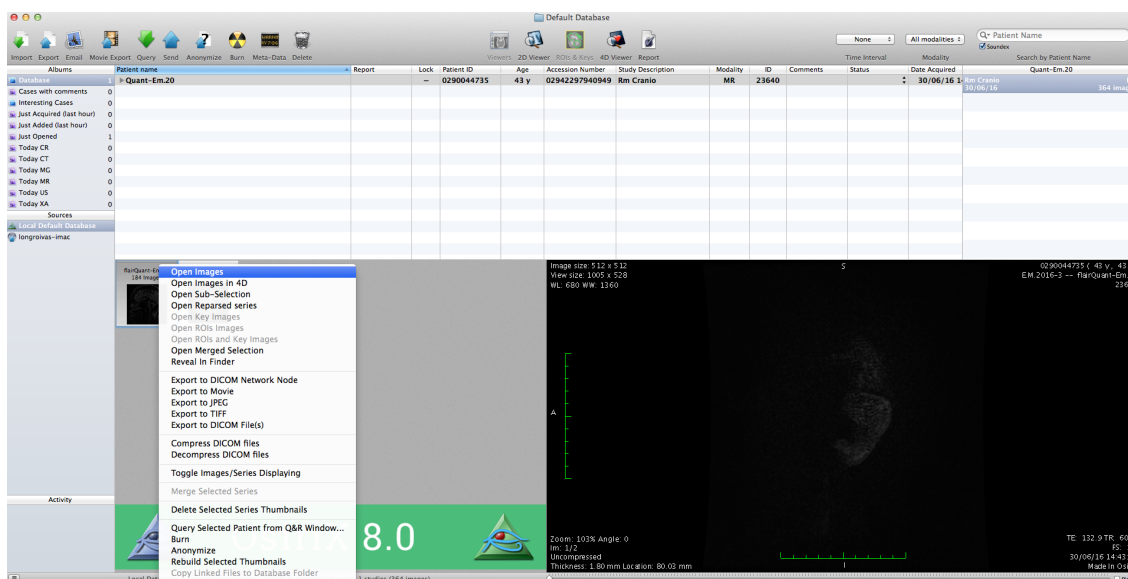


Figura B.5: Para a seleção do *plugin* uma das imagens deve ser aberta

APÊNDICE B. UTILIZAÇÃO DA FERRAMENTA QUANTEMTOOL

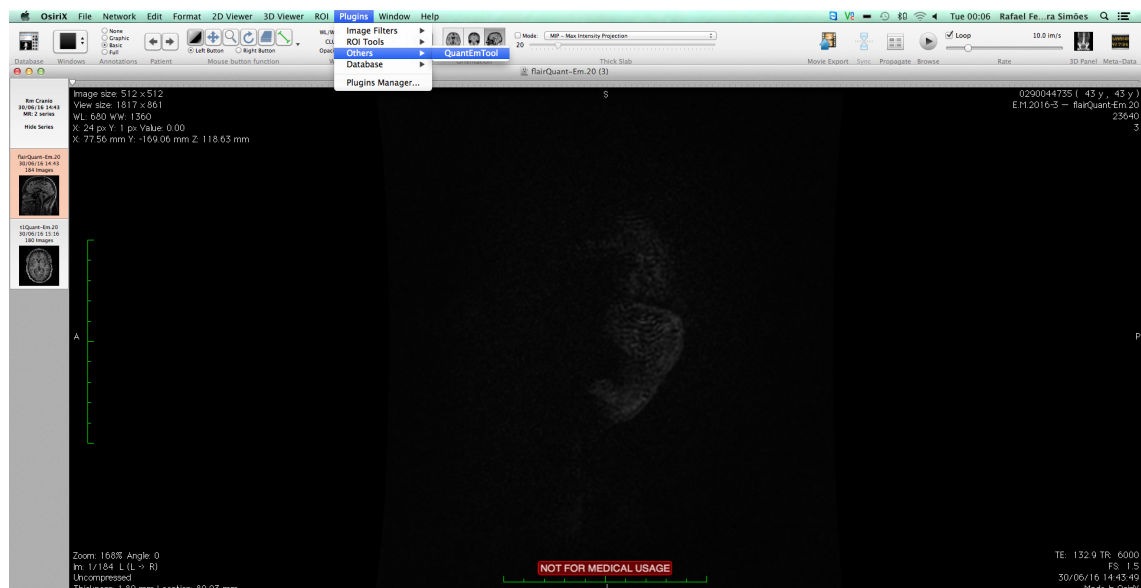


Figura B.6: Seleção do *plugin* QuantEmTool

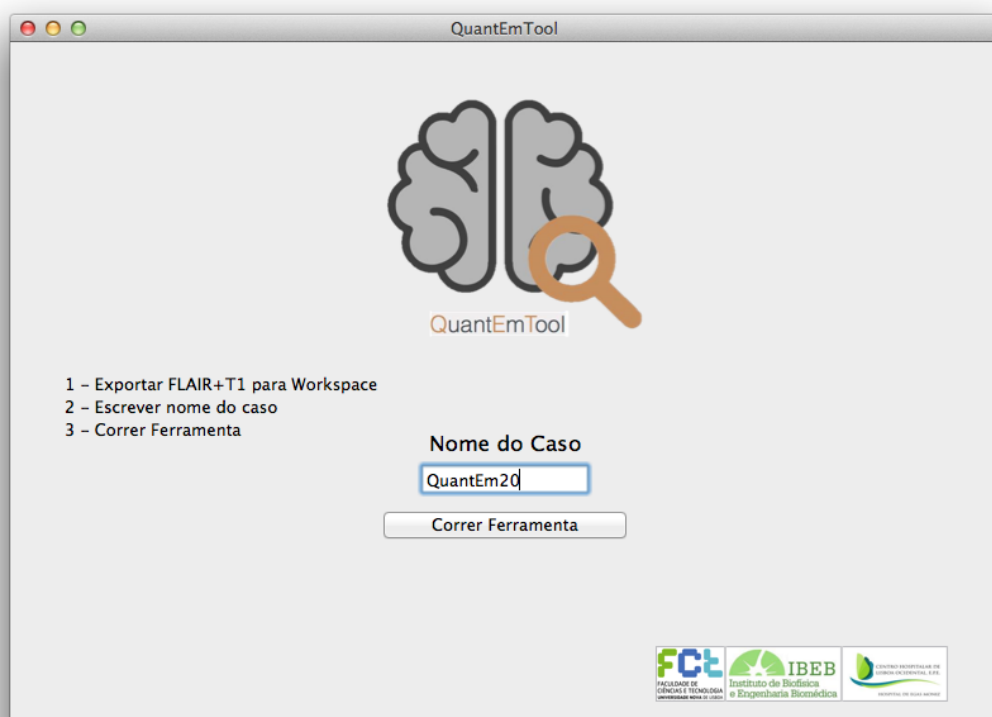


Figura B.7: Inscrição do nome do caso a ser analisado

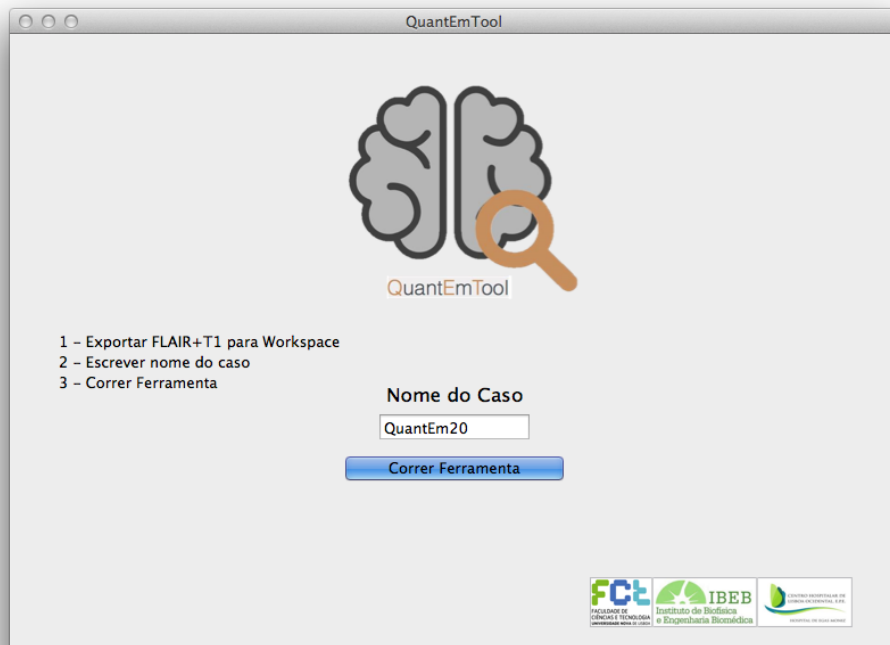


Figura B.8: Seleção do botão *Correr Ferramenta*

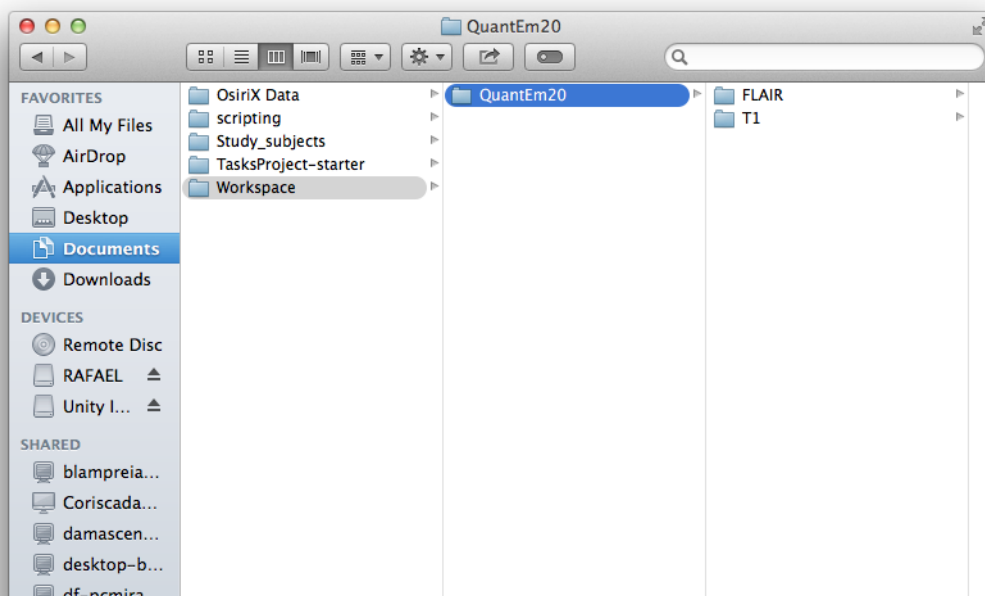


Figura B.9: Uma pasta com o nome submetido é criada dentro da pasta *Workspace*, sendo as imagens transferidas para este novo diretório

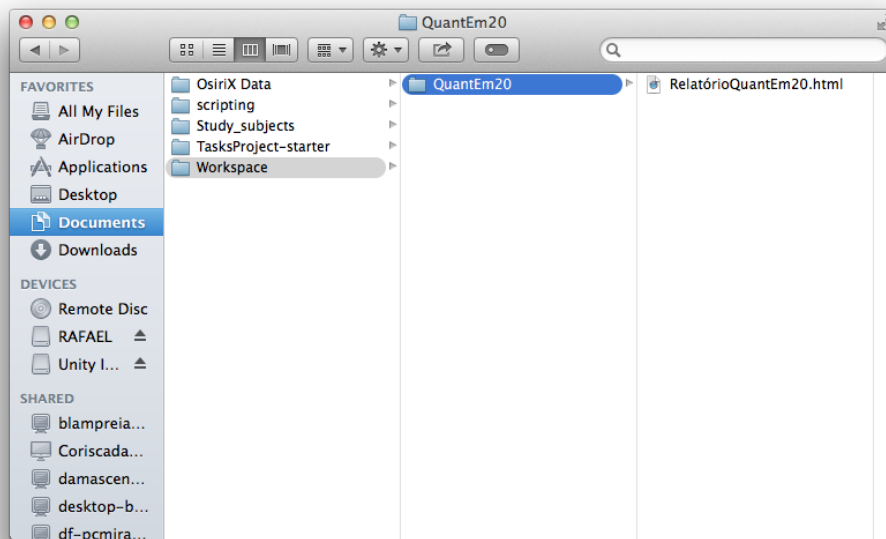


Figura B.10: No final do processamento é disponibilizado um relatório em formato HTML, sendo os restantes ficheiros acessórios apagados

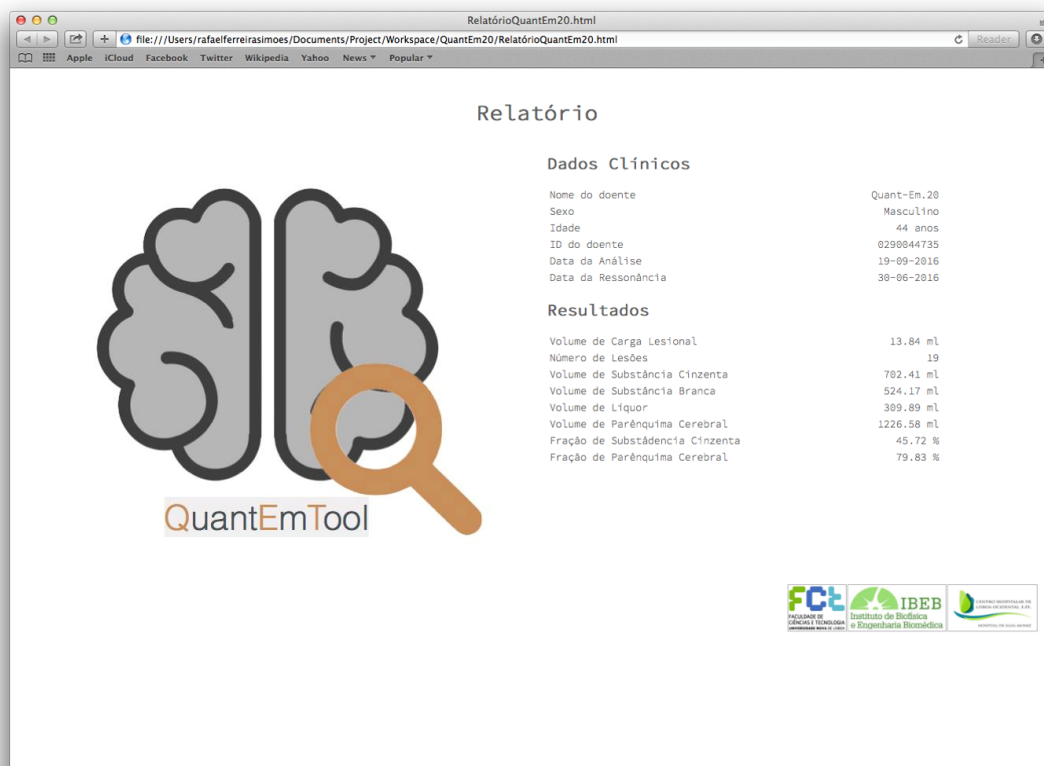


Figura B.11: Relatório HTML do caso analisado, exibido no *browser* local

GRÁFICOS AUXILIARES

C.1 Comparação de estimativas volumétricas dos *scripts* FSL e SPM

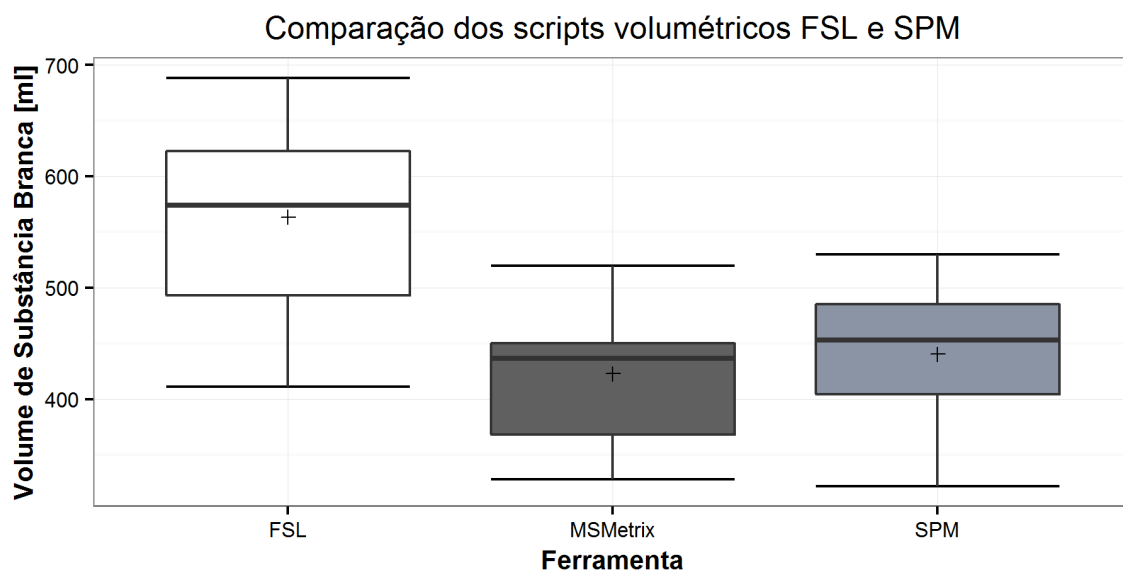


Figura C.1: Comparação da estimativa do volume de Substância Branca dos scripts FSL e SPM com a referência

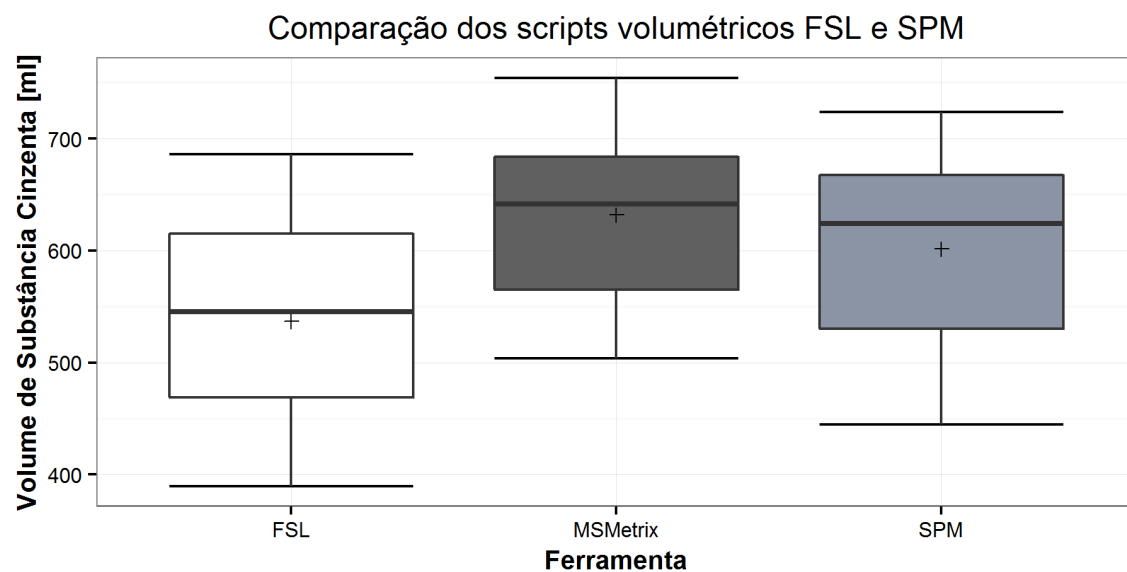


Figura C.2: Comparação da estimativa do volume de Substância Cinzenta dos scripts FSL e SPM com a referência

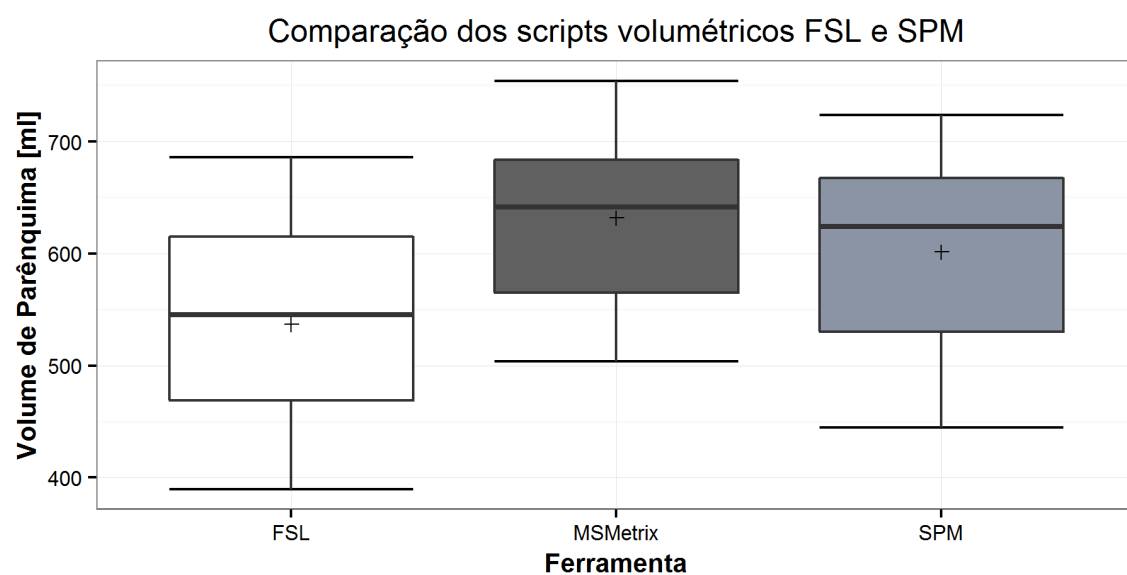


Figura C.3: Comparação da estimativa do volume de Parênquima encefálico dos scripts FSL e SPM com a referência

C.2 Análise Bland-Altman na comparação dos *scripts* FSL e SPM

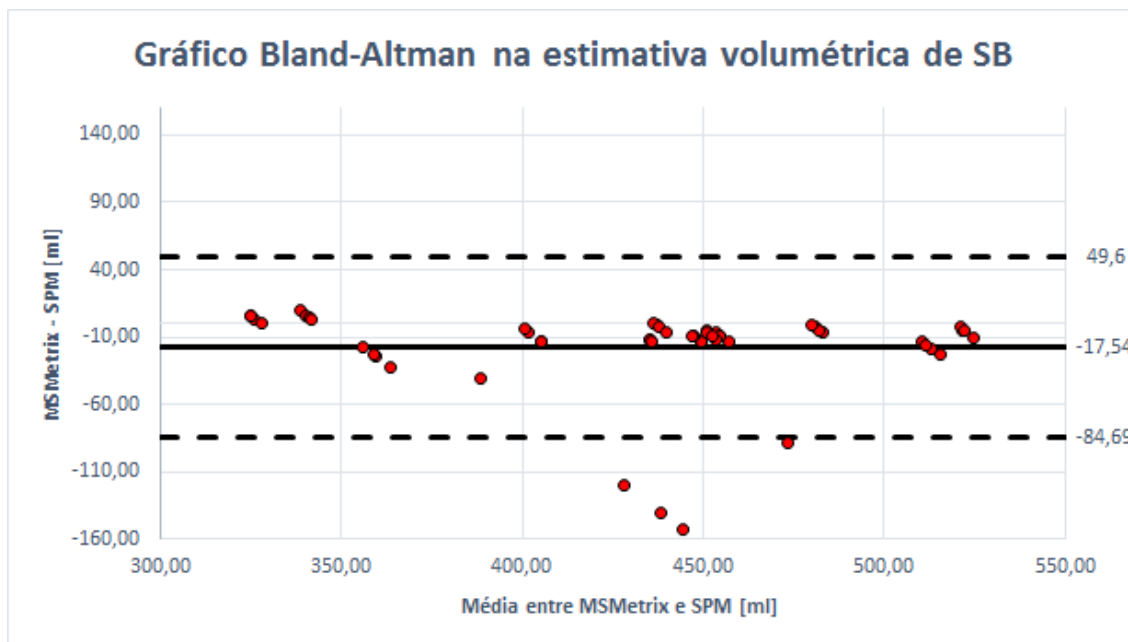


Figura C.4: Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Branca do script SPM com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix

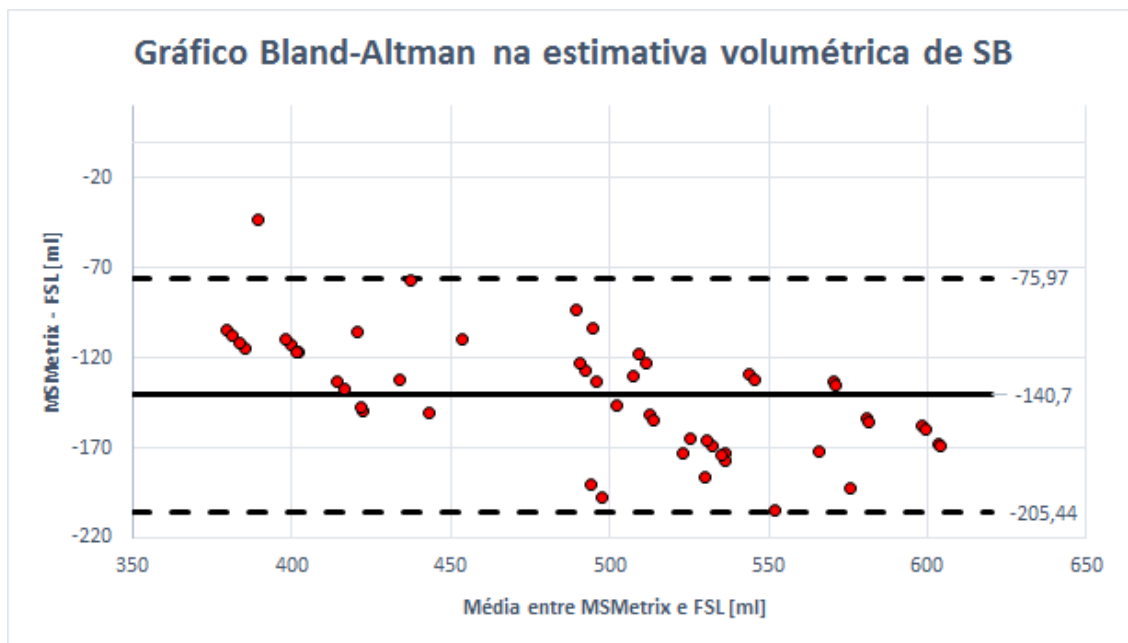


Figura C.5: Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Branca do script FSL com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix

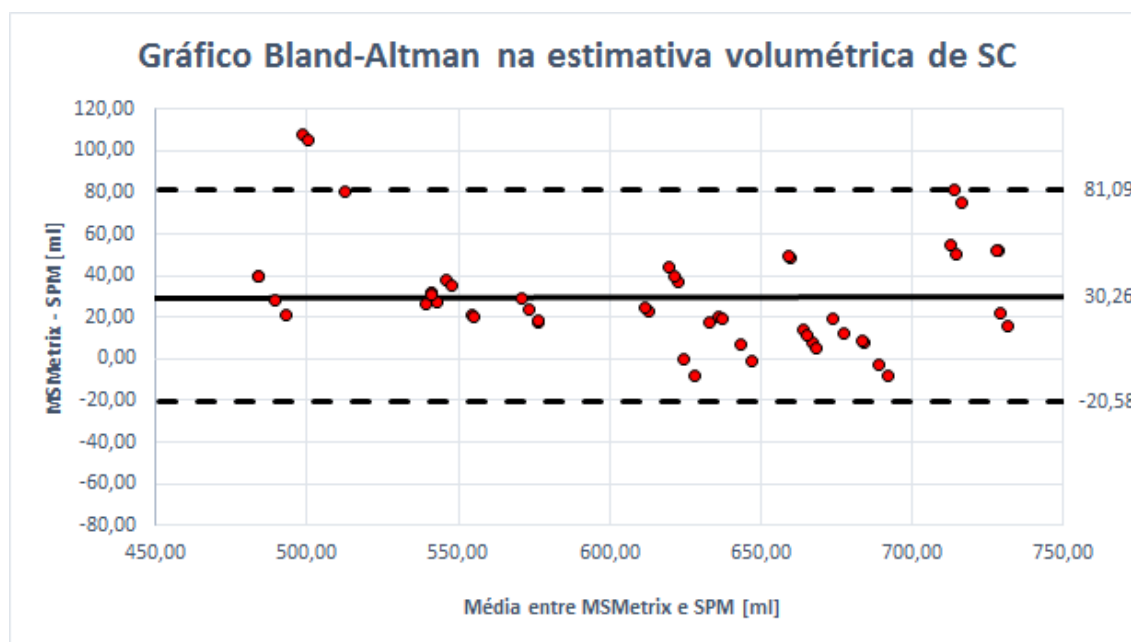


Figura C.6: Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Cinzenta do script SPM com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix

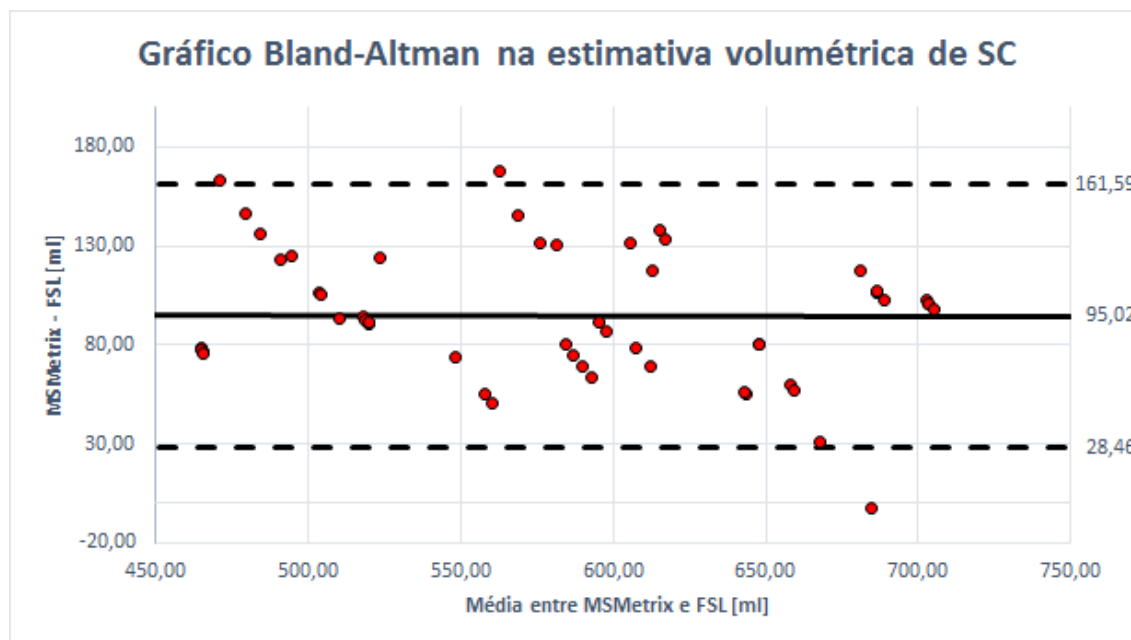


Figura C.7: Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica de Substância Cinzenta do script FSL com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix

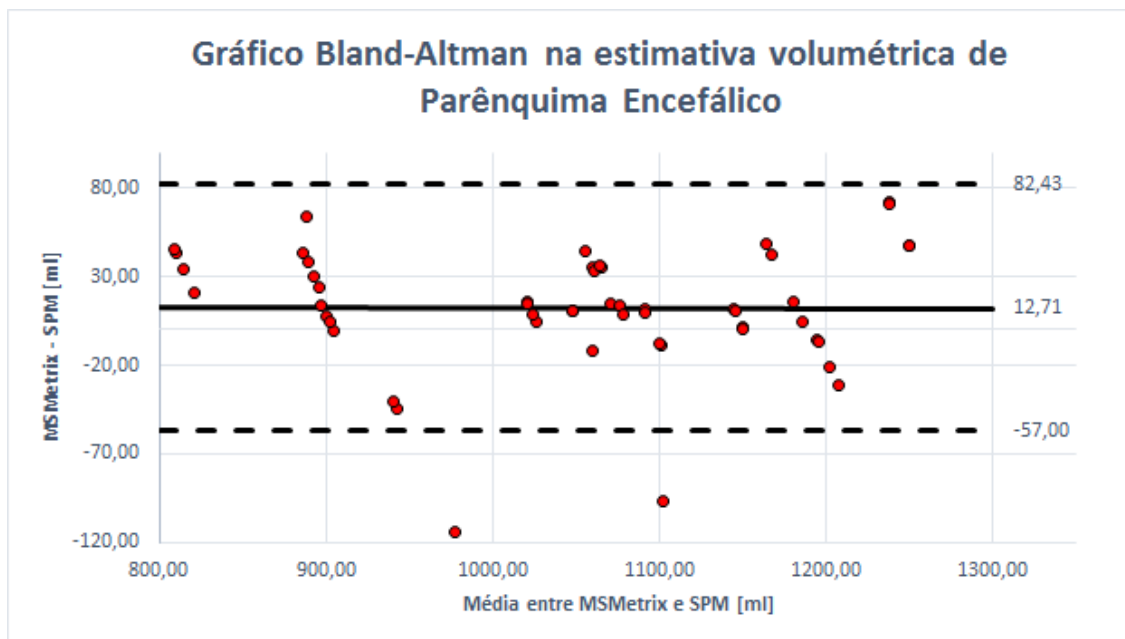


Figura C.8: Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica do parênquima encefálico do script SPM com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix

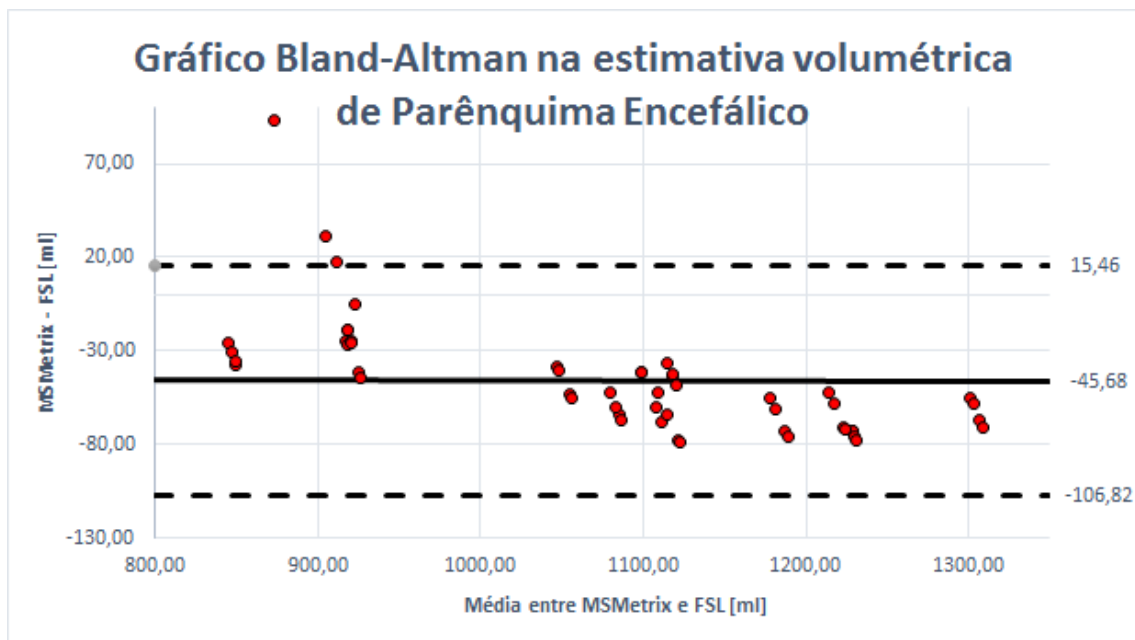


Figura C.9: Análise Bland-Altman na comparação da estimativa volumétrica do parênquima encefálico do script FSL com a referência estabelecida pela ferramenta MSMetrix

C.3 Comparação de protocolos nas estimativas volumétricas

C.3.1 Volume de Substância Branca

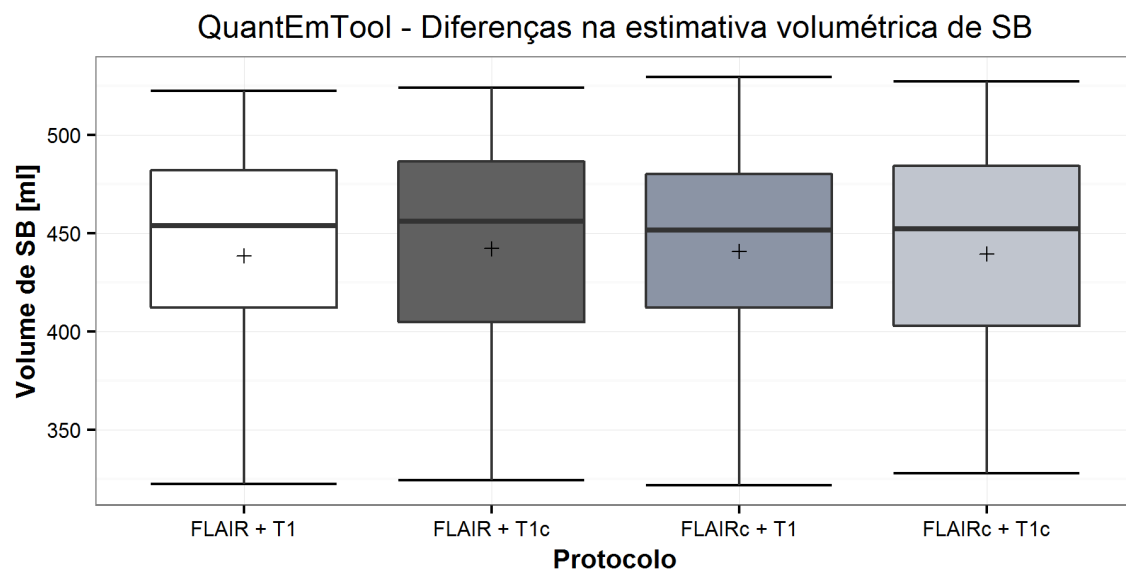


Figura C.10: Estimativa volumétrica de Substância Branca da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados

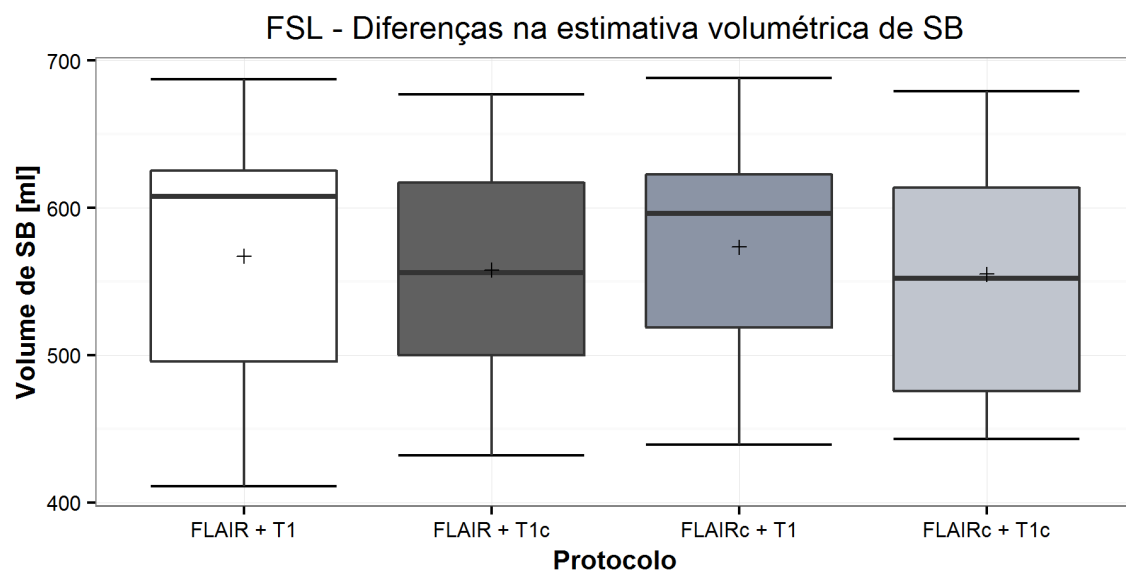


Figura C.11: Estimativa volumétrica de Substância Branca do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados

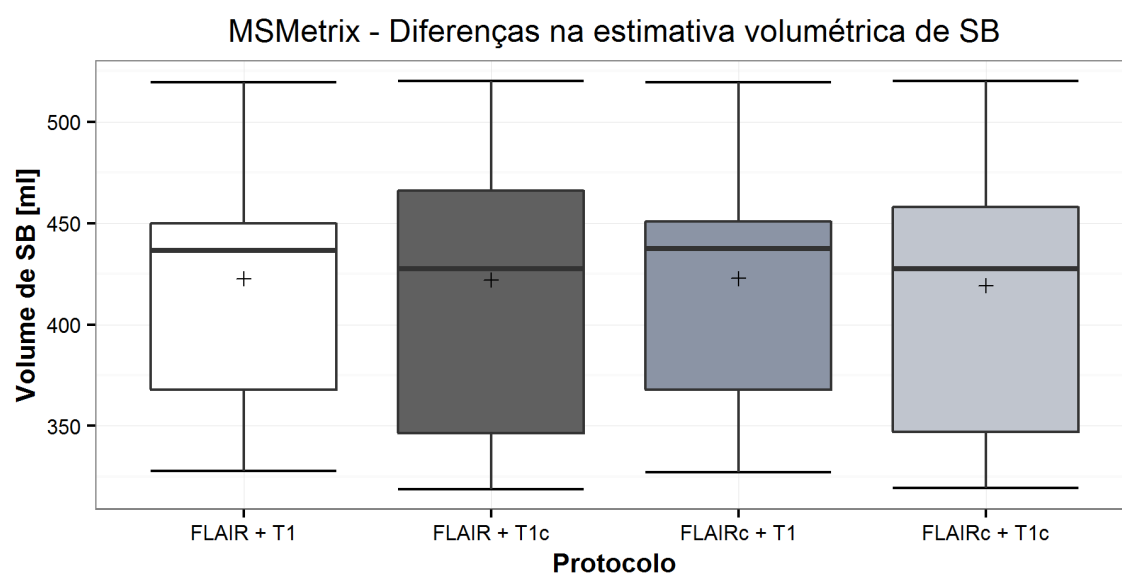


Figura C.12: Estimativa volumétrica de Substância Branca da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados

C.3.2 Volume de Substância Cinzenta

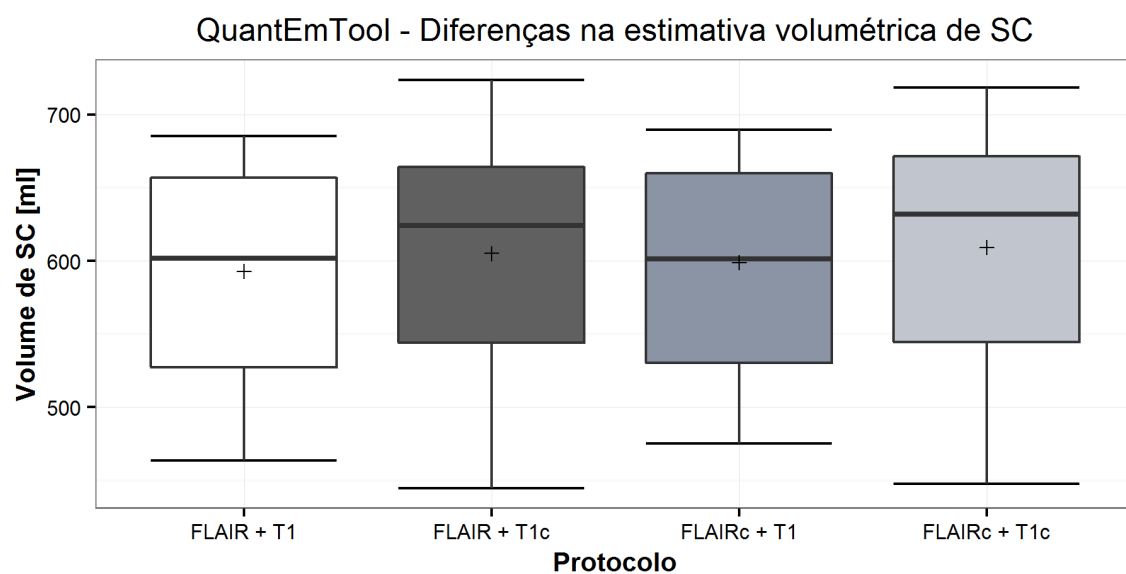


Figura C.13: Estimativa volumétrica de Substância Cinzenta da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados

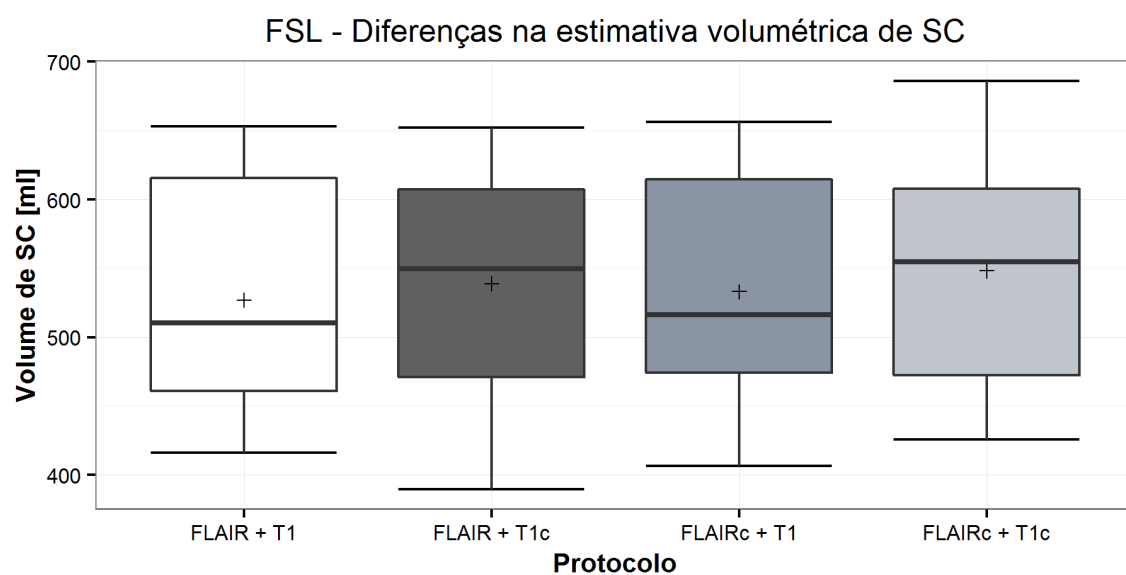


Figura C.14: Estimativa volumétrica de Substância Cinzenta do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados

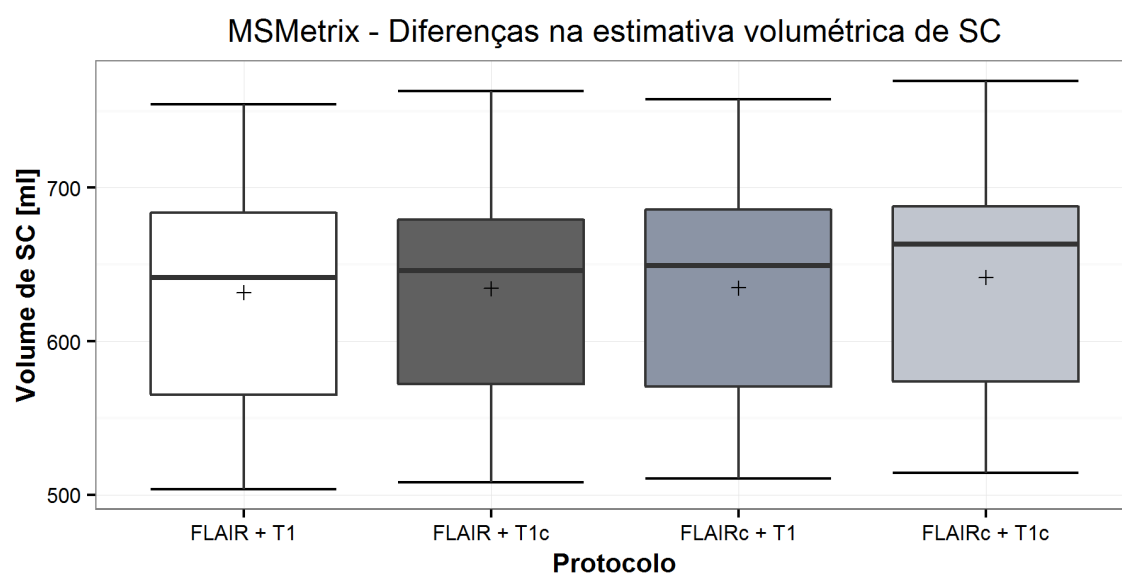


Figura C.15: Estimativa volumétrica de Substância Cinzenta da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados

C.3.3 Volume de Parênquima Encefálico

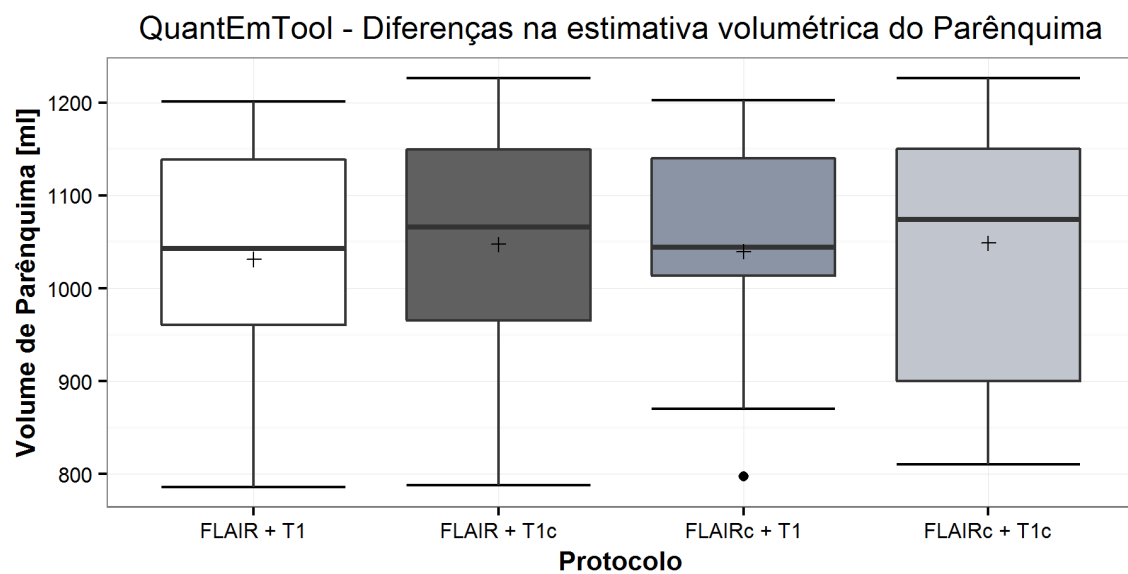


Figura C.16: Estimativa volumétrica de parênquima encefálico da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados

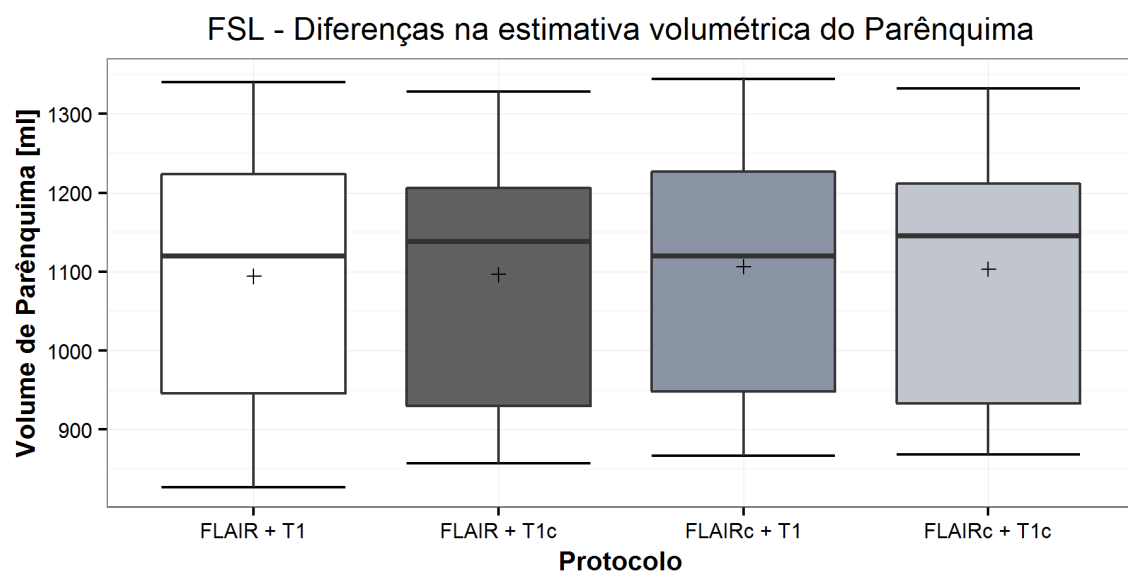


Figura C.17: Estimativa volumétrica de parênquima encefálico do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados

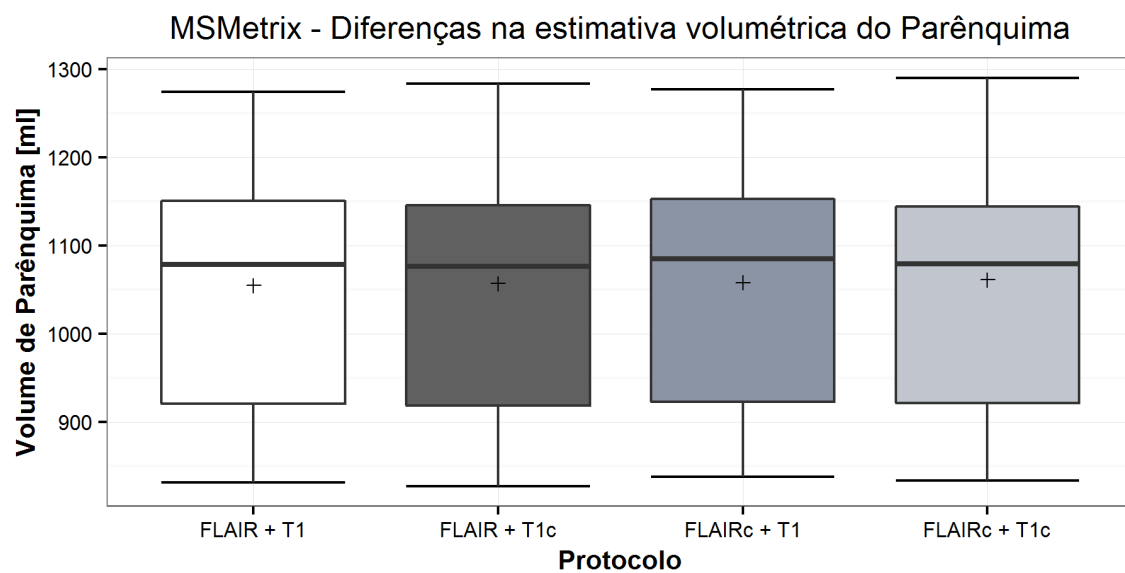


Figura C.18: Estimativa volumétrica de parênquima encefálico da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados

C.3.4 Volume de Líquido cefalorraquidiano

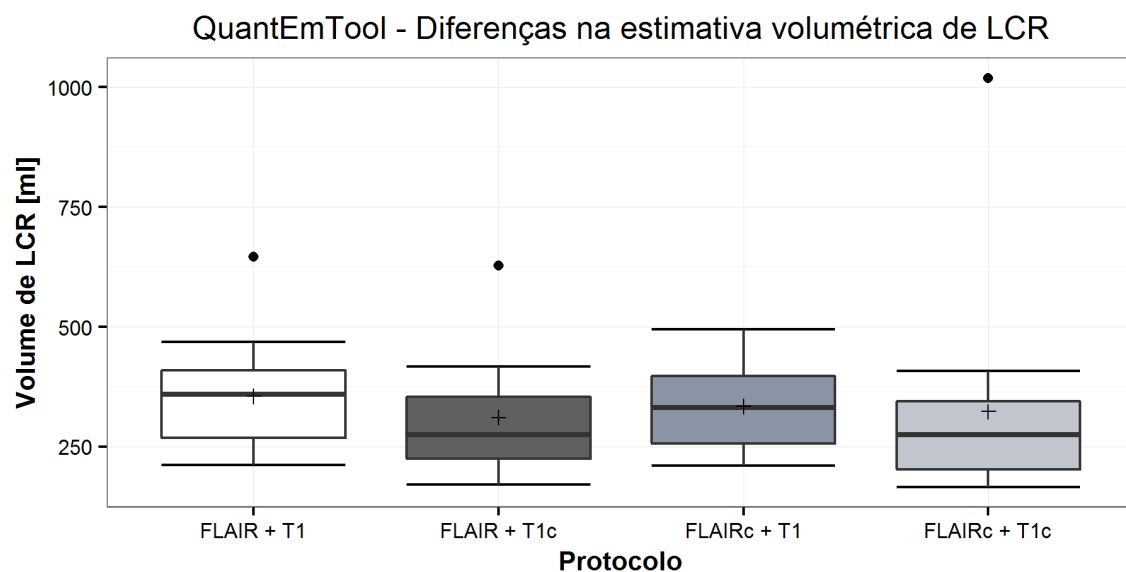


Figura C.19: Estimativa volumétrica de líquido cefalorraquidiano da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados

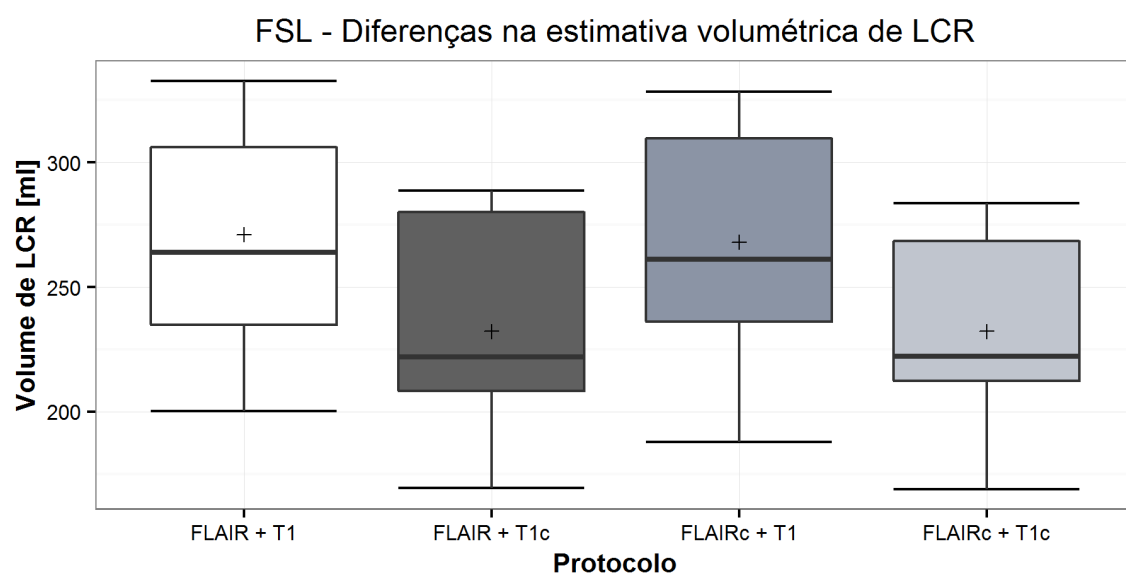


Figura C.20: Estimativa volumétrica de líquido cefalorraquidiano do script FSL para os quatro protocolos de imagem adotados

C.3.5 Volume de Carga Lesional

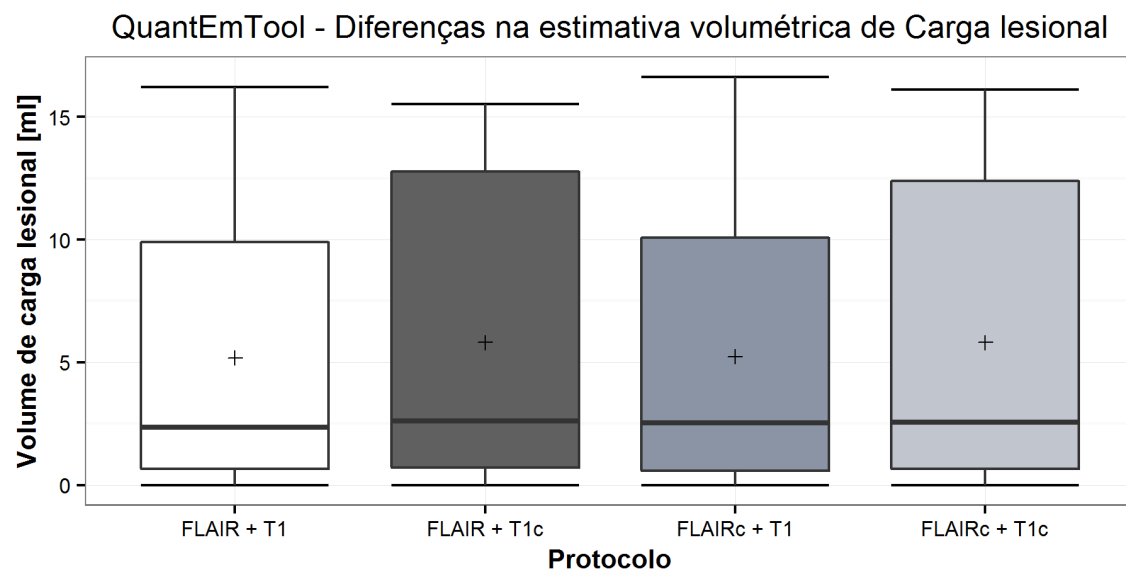


Figura C.21: Estimativa volumétrica de carga lesional da ferramenta QuantEmTool para os quatro protocolos de imagem adotados

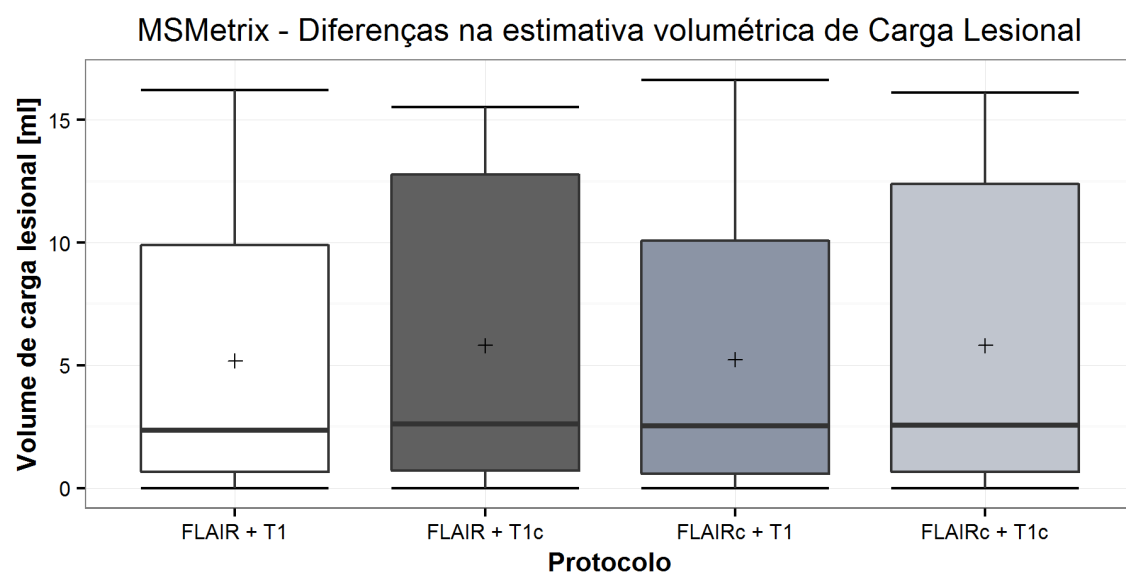


Figura C.22: Estimativa volumétrica de carga lesional da ferramenta MSMetrix para os quatro protocolos de imagem adotados

C.4 Estudo dos resultados da ferramenta QuantEmTool

C.4.1 Índices de atrofia

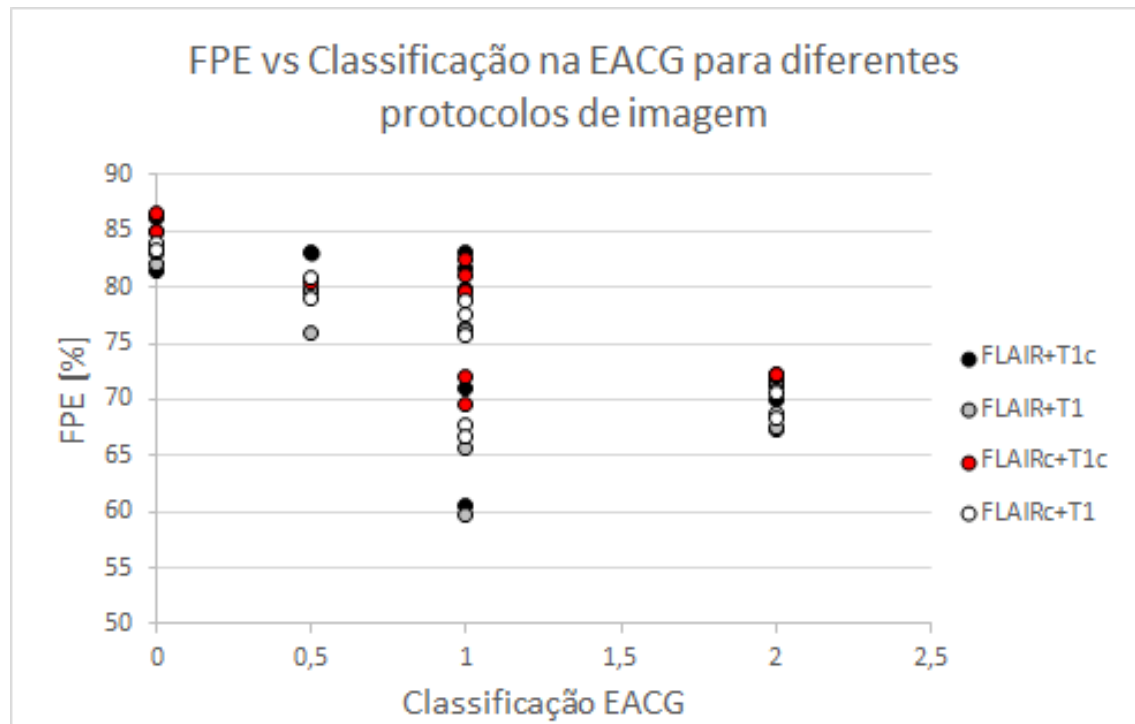


Figura C.23: Estudo correlativo entre a fração de parênquima encefálico calculada pela ferramenta QuantEmTool e respetiva classificação na Escala de Atrofia Cortical Global

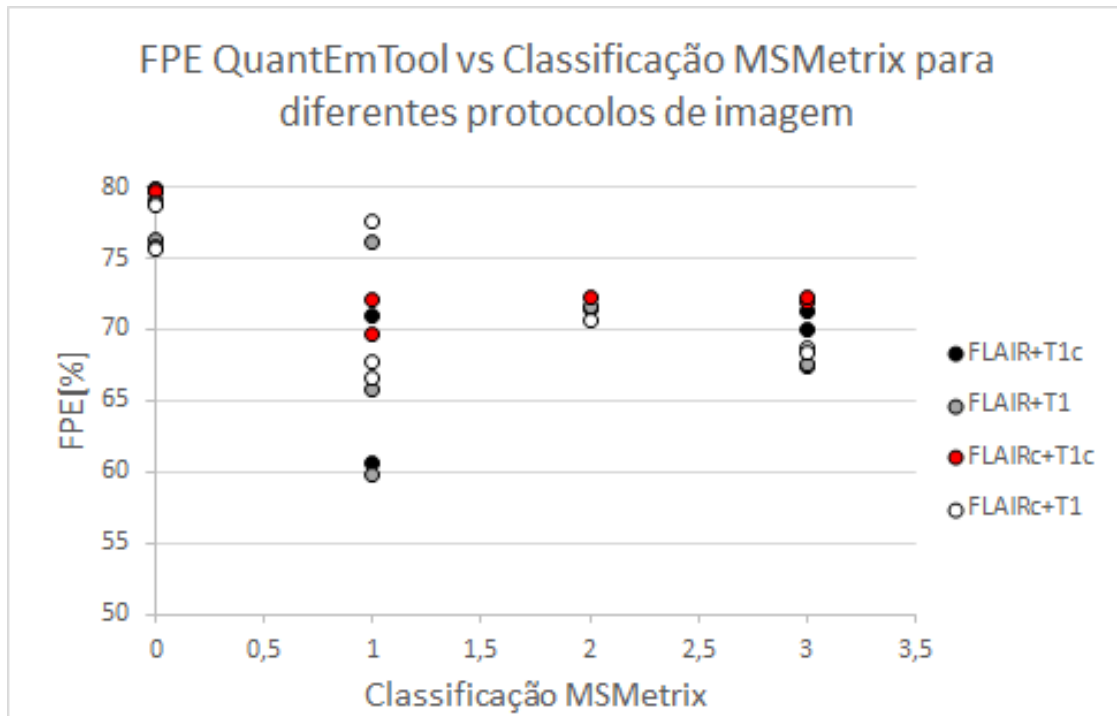


Figura C.24: Estudo correlativo entre a fração de parênquima encefálico calculada pela ferramenta QuantEmTool e respetivo enquadramento de atrofia cerebral realizado pela ferramenta MSMetrix

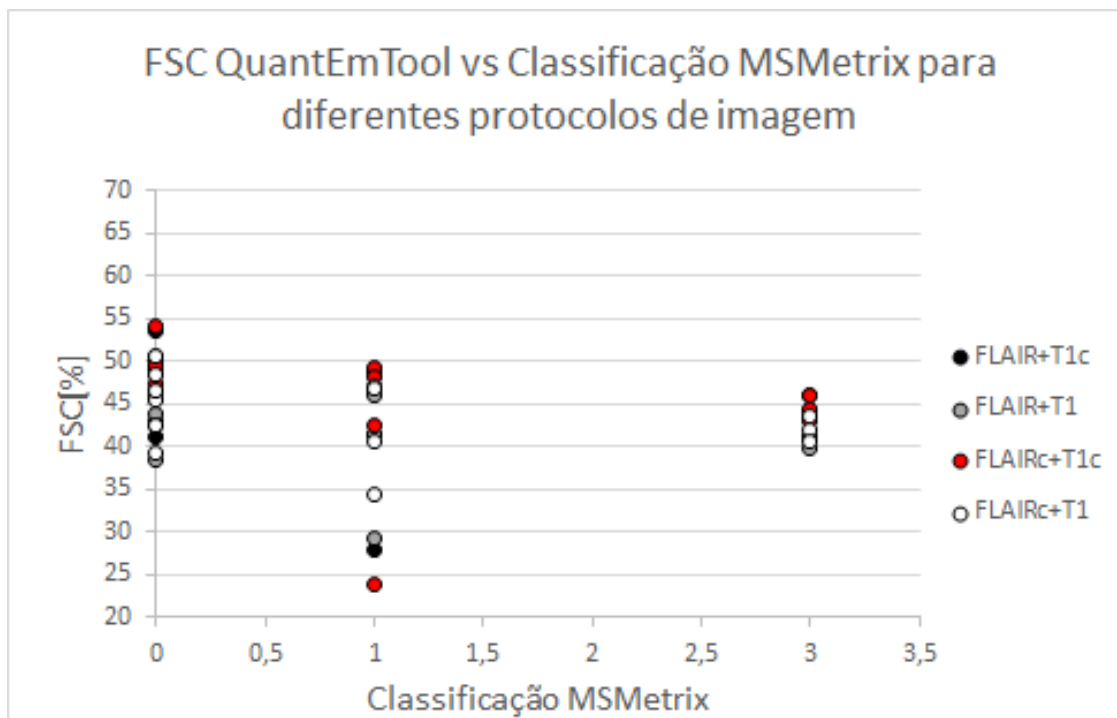


Figura C.25: Estudo correlativo entre a fração de substância cinzenta calculada pela ferramenta QuantEmTool e respetivo enquadramento de atrofia cortical realizado pela ferramenta MSMetrix

C.4.2 Carga lesional

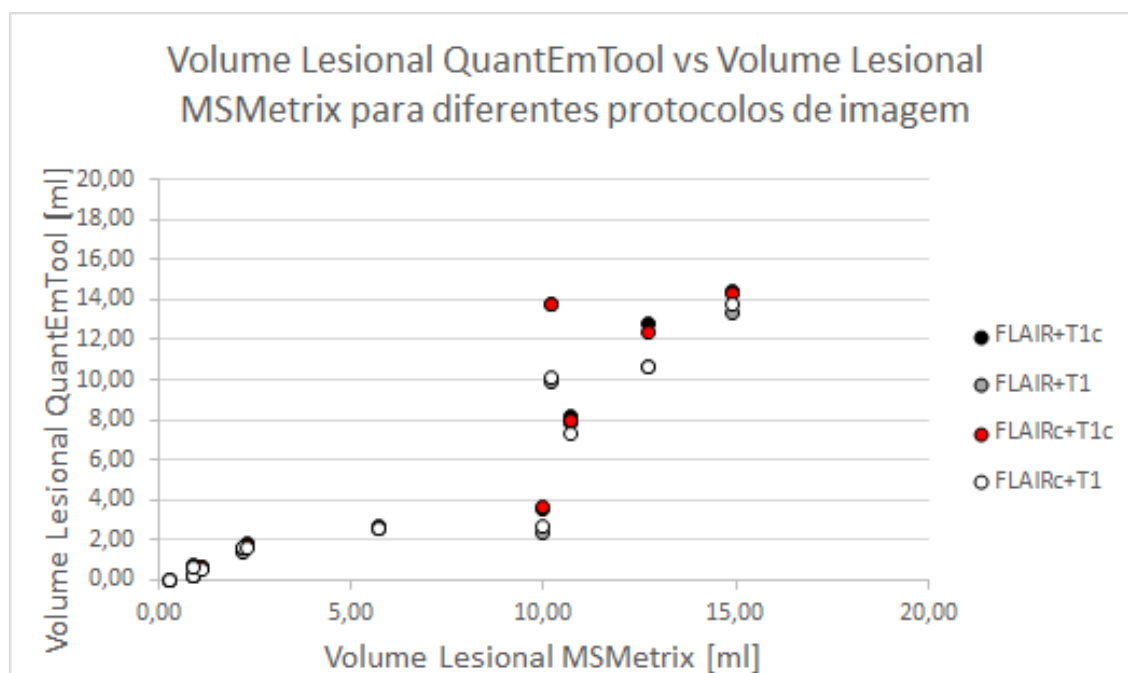


Figura C.26: Estudo correlativo entre volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e a referência calculada pela ferramenta MSMetrix

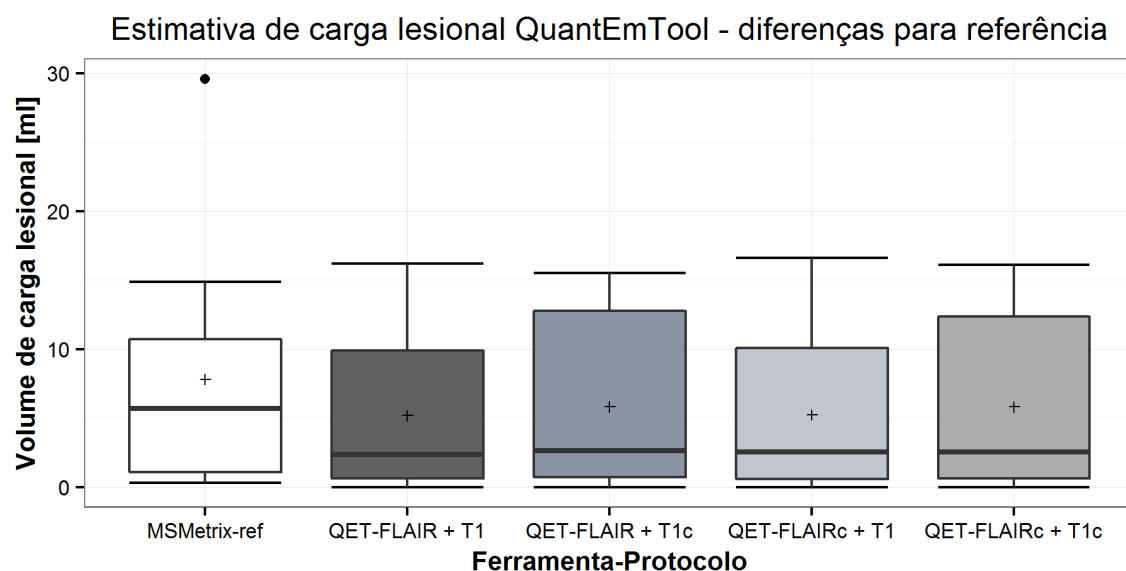


Figura C.27: Comparação entre a estimativa volumétrica de carga lesional para diferentes protocolos de imagem por parte da ferramenta QuantEmTool e a referência calculada pela ferramenta MSMetrix

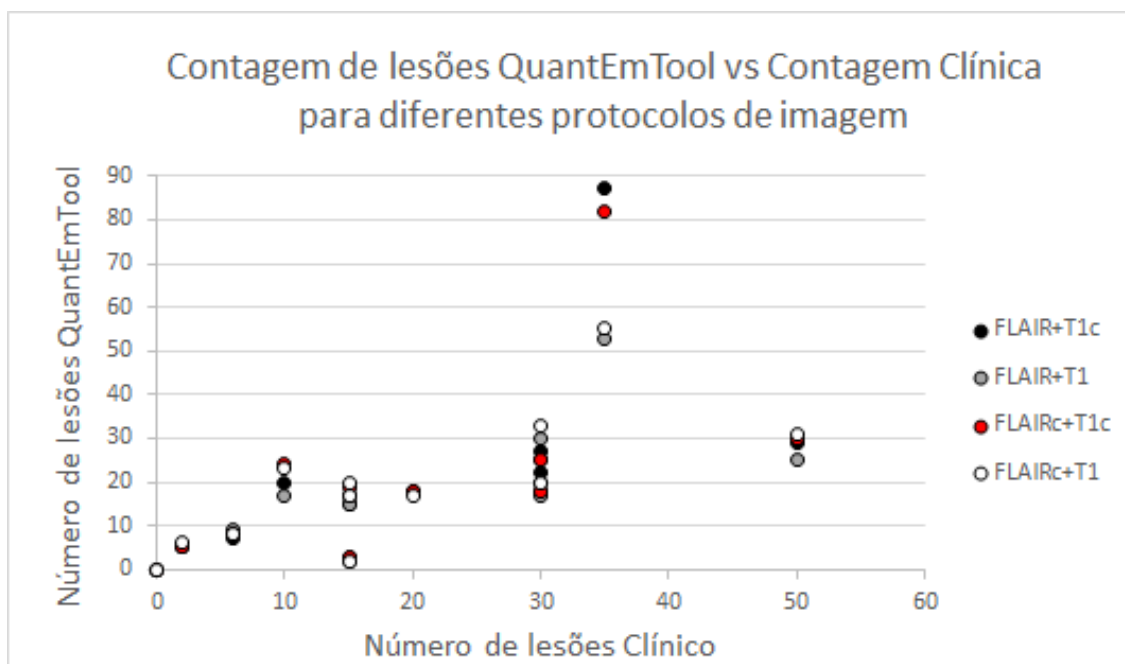


Figura C.28: Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e a referência clínica

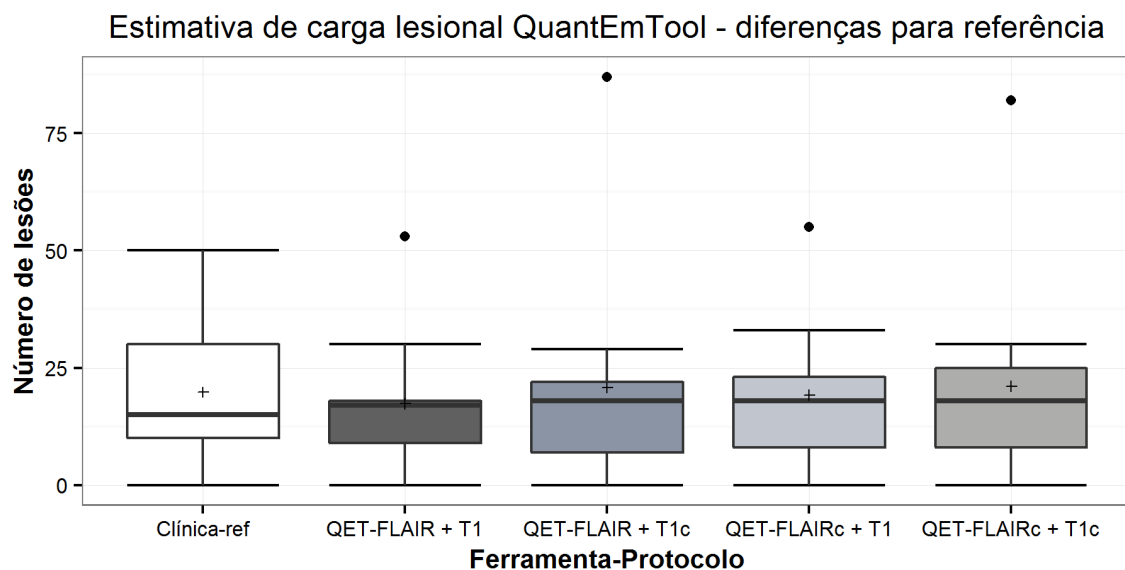


Figura C.29: Comparação entre a contagem do número de lesões para diferentes protocolos de imagem por parte da ferramenta QuantEmTool e a referência clínica

C.5 Estudo de correlações clínicas

C.5.1 Anos de Doença

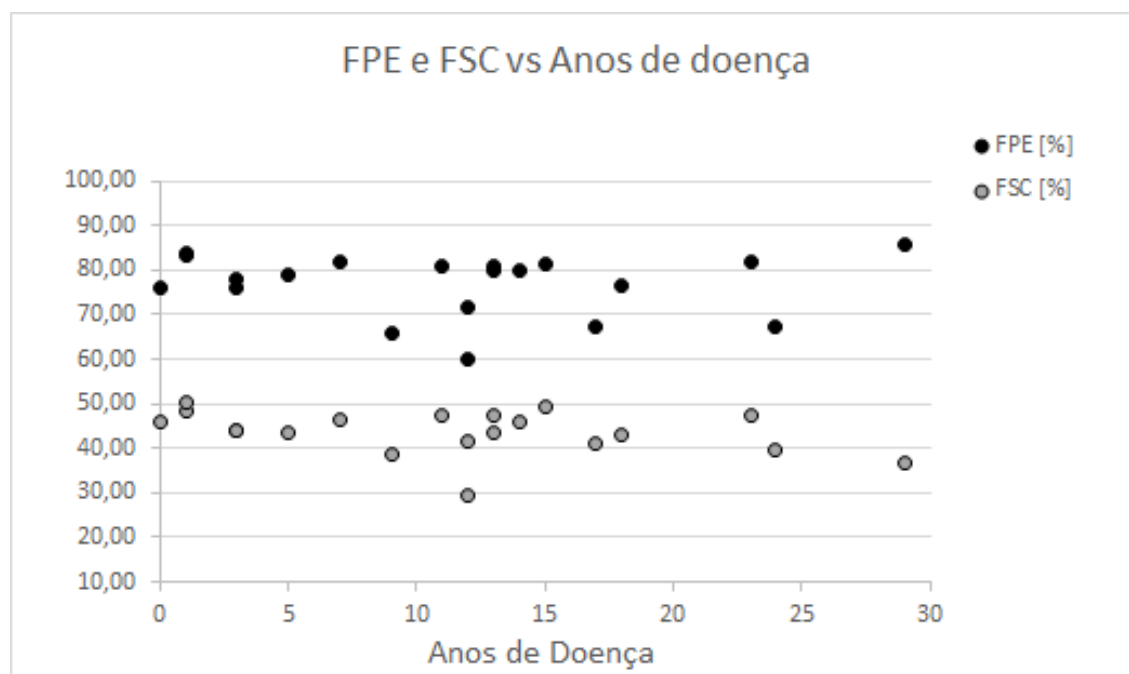


Figura C.30: Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos da Doença

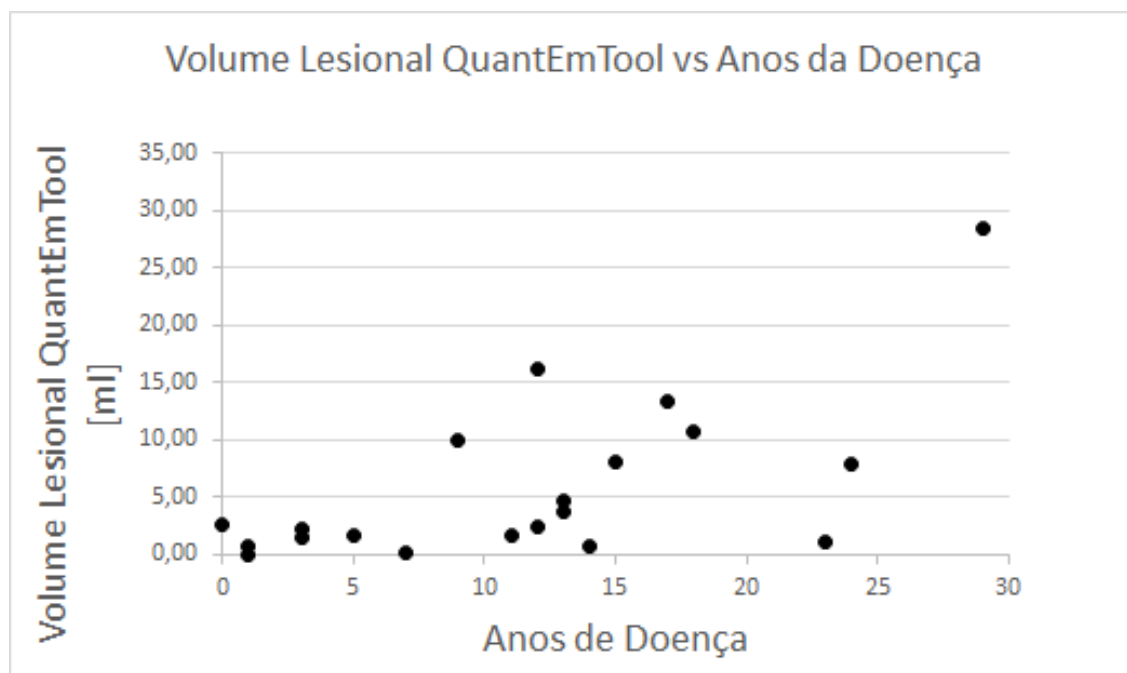


Figura C.31: Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos da Doença

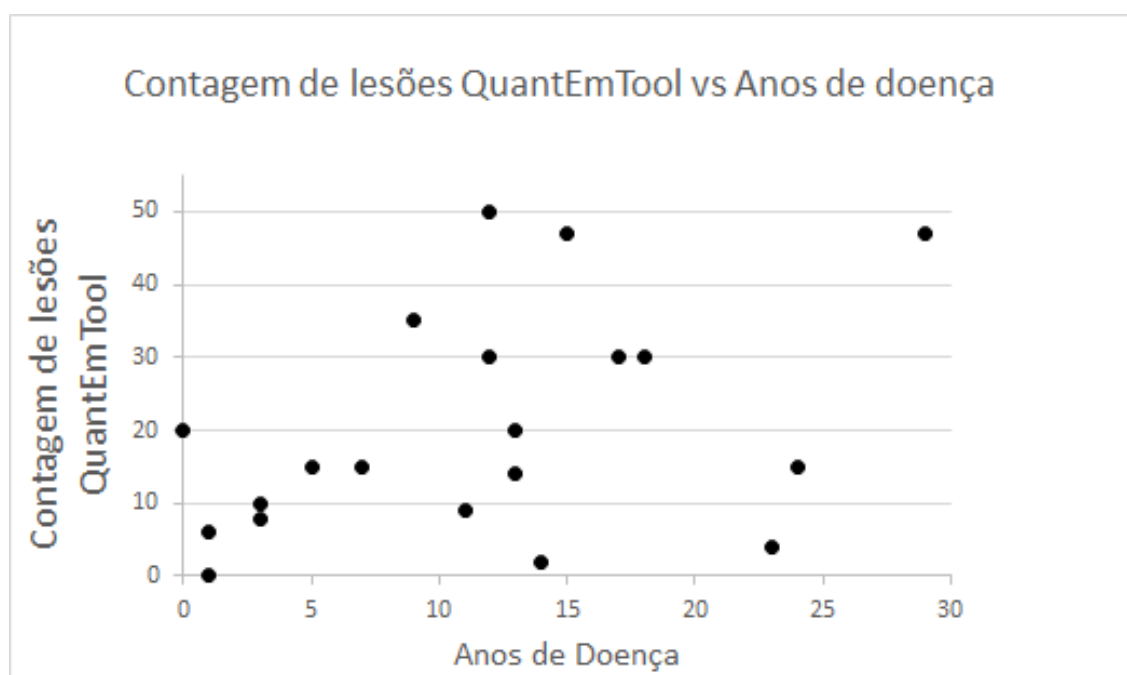


Figura C.32: Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e o número de anos da Doença

C.5.2 Idade

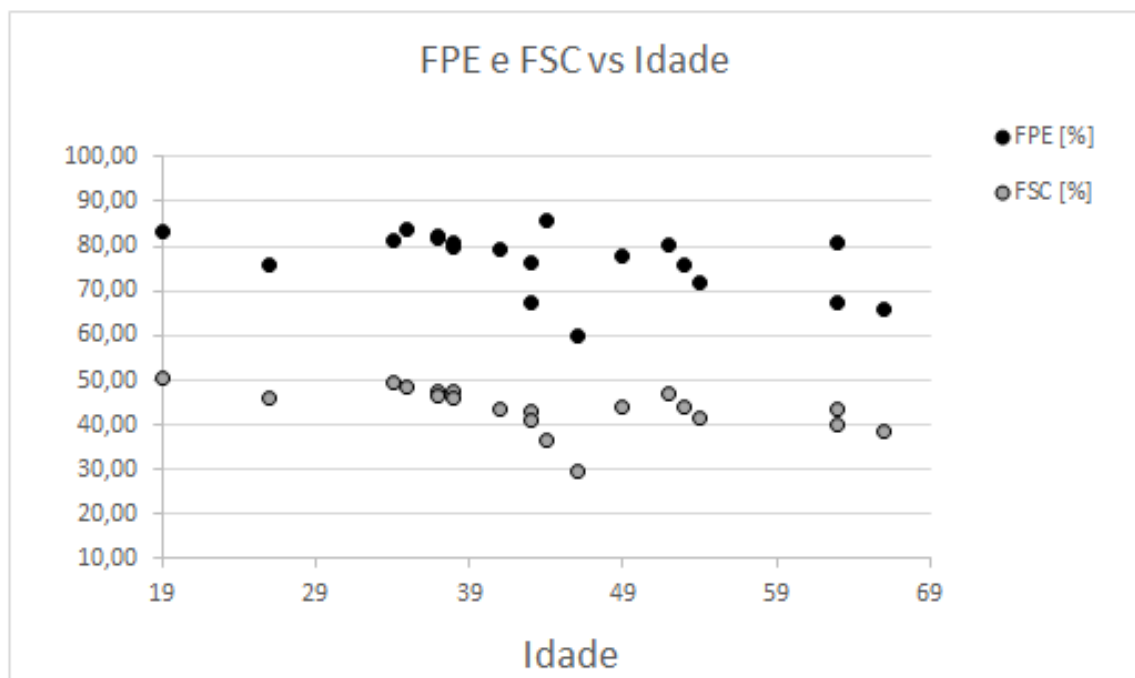


Figura C.33: Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e a idade

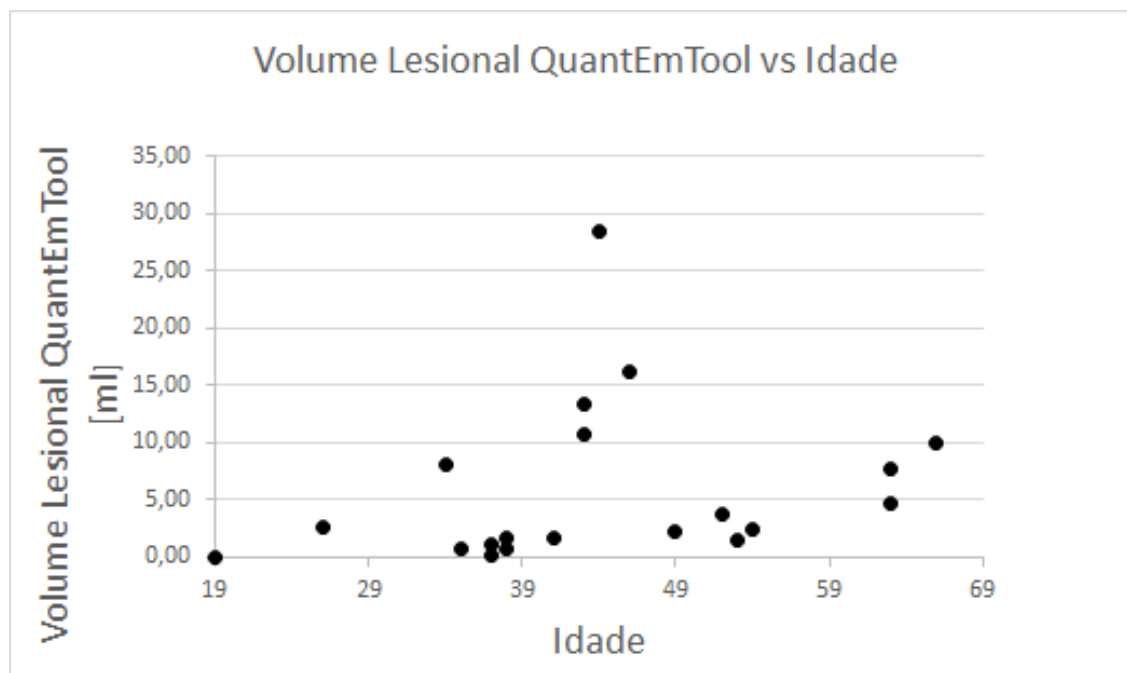


Figura C.34: Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e a idade

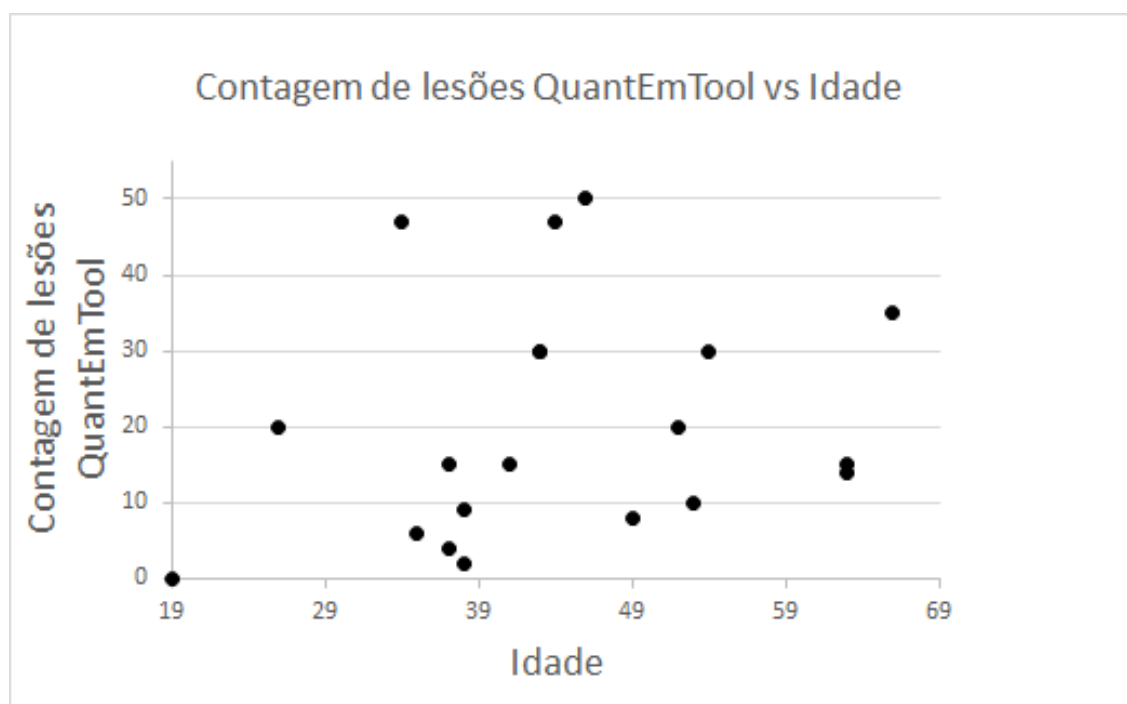


Figura C.35: Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e a idade

C.5.3 Classificação na EDSS

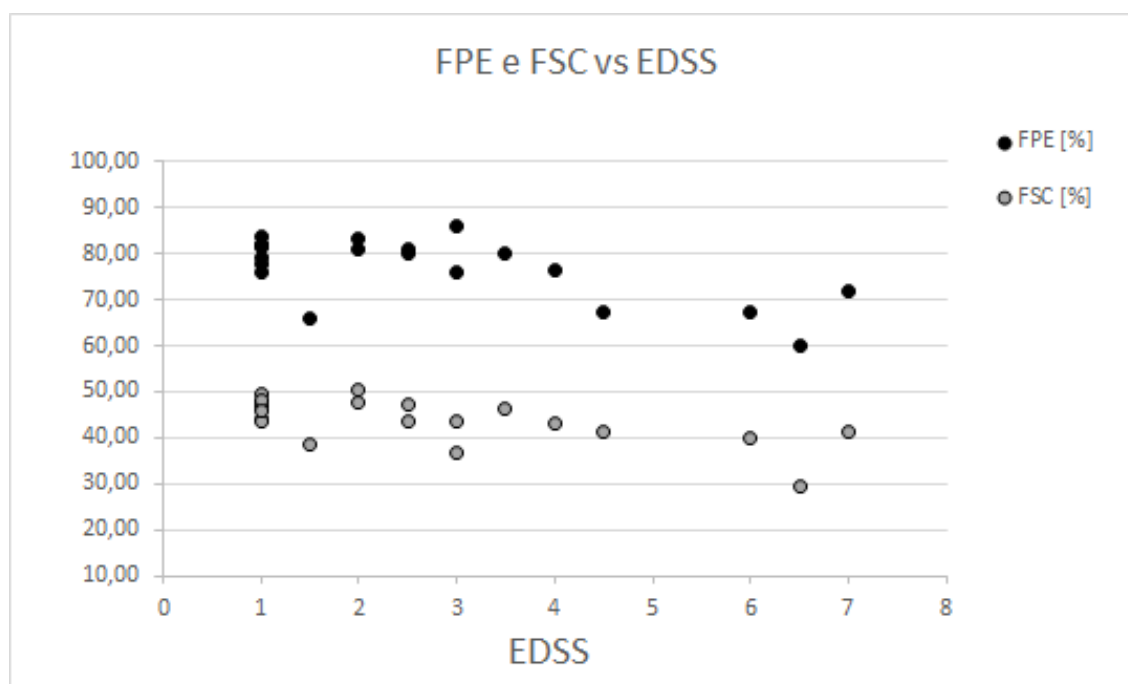


Figura C.36: Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e a classificação na EDSS

C.5.4 Índice de Vitamina D

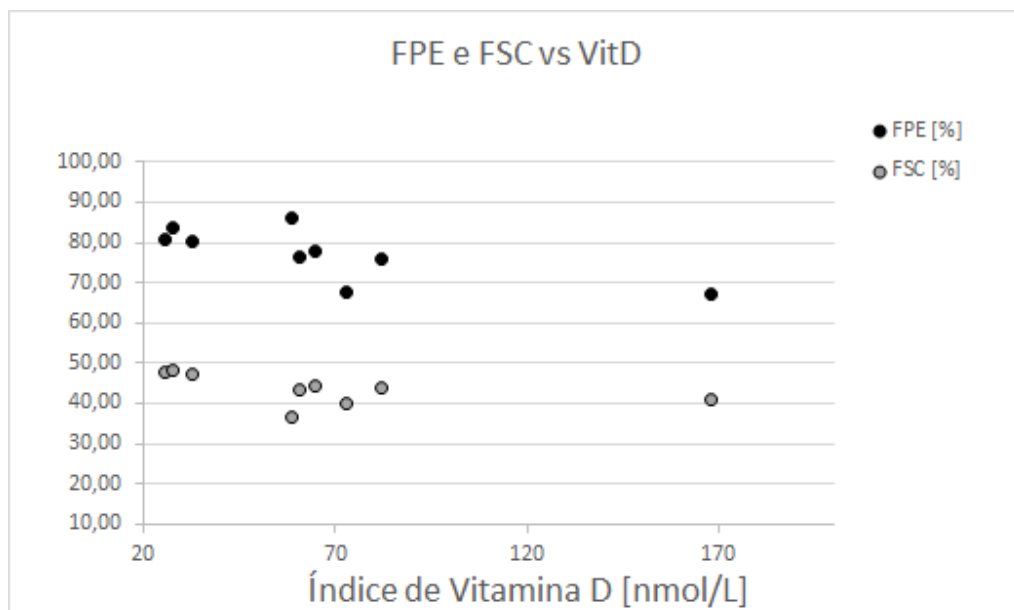


Figura C.39: Estudo correlativo entre os indicadores de atrofia cerebral e cortical calculados pela ferramenta QuantEmTool e o índice de vitamina D

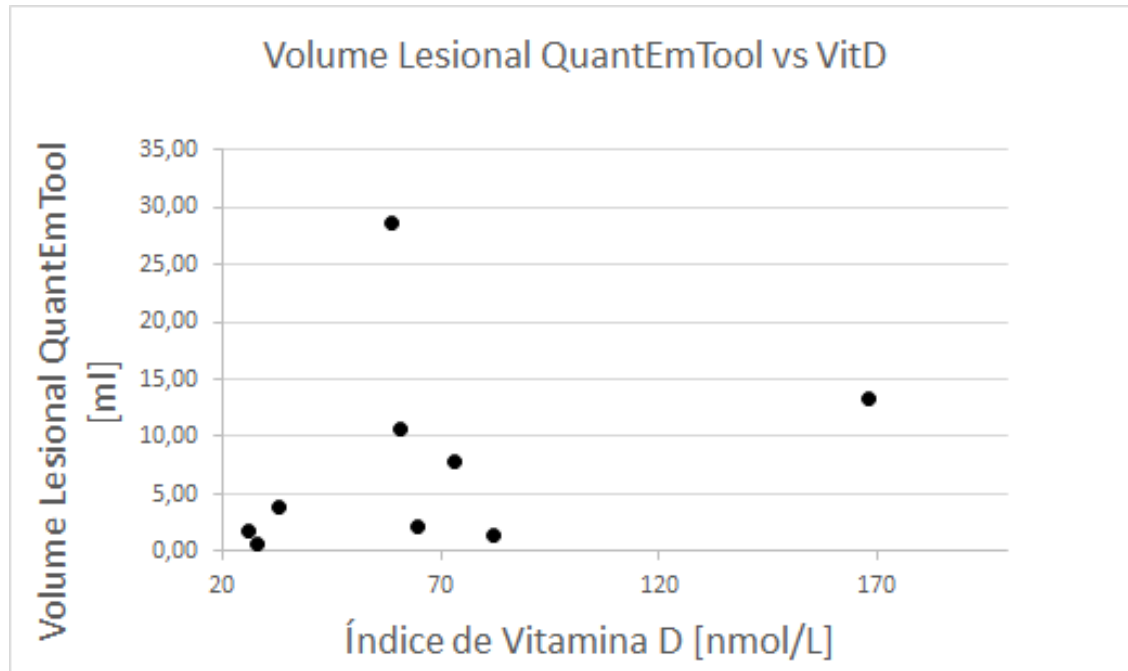


Figura C.40: Estudo correlativo entre o volume de carga lesional estimado pela ferramenta QuantEmTool e o índice de vitamina D

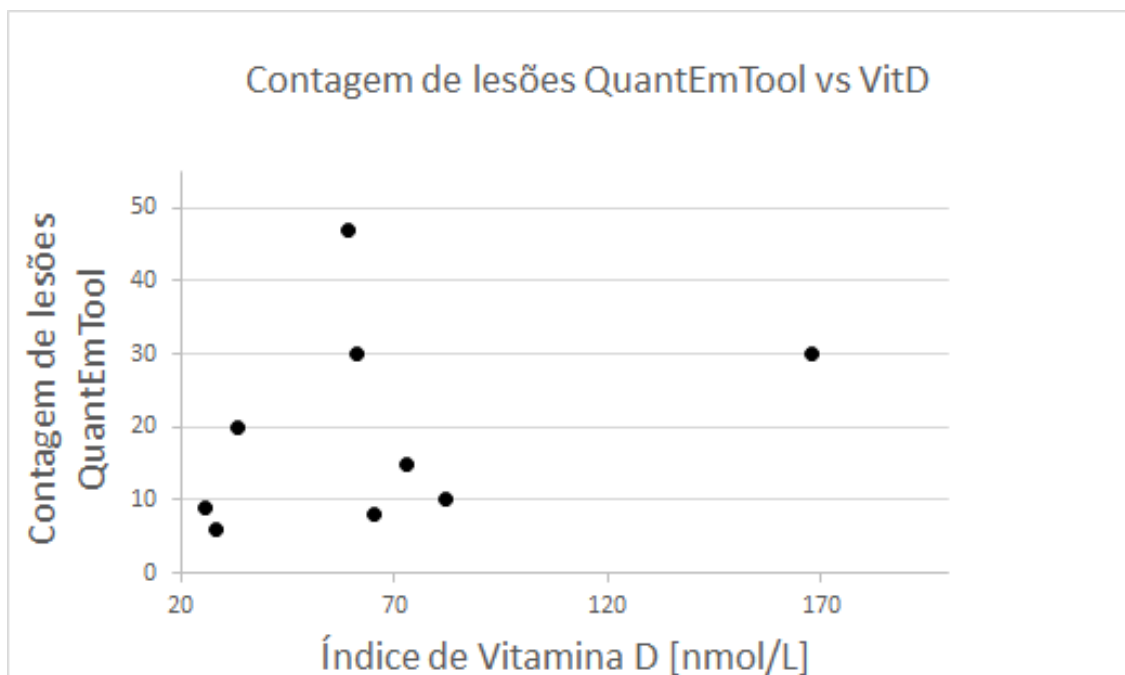


Figura C.41: Estudo correlativo entre o número de lesões estimado pela ferramenta QuantEmTool e o índice de vitamina D

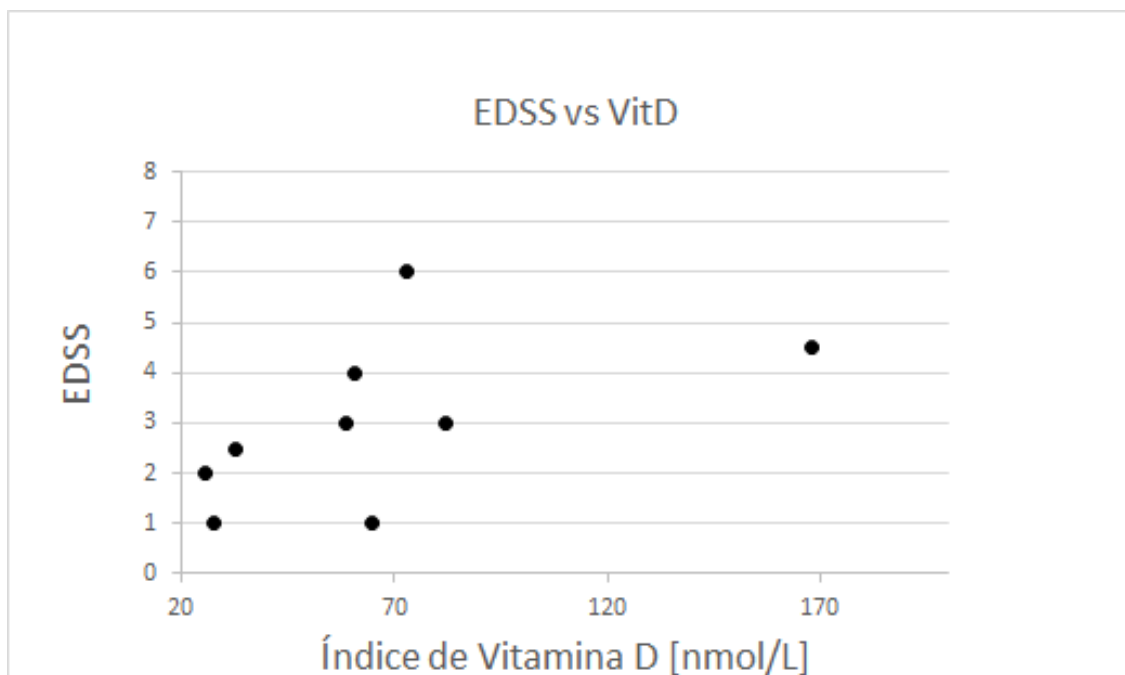


Figura C.42: Estudo correlativo entre a classificação na EDSS e o índice de vitamina D

C.5.5 Hábitos tabágicos

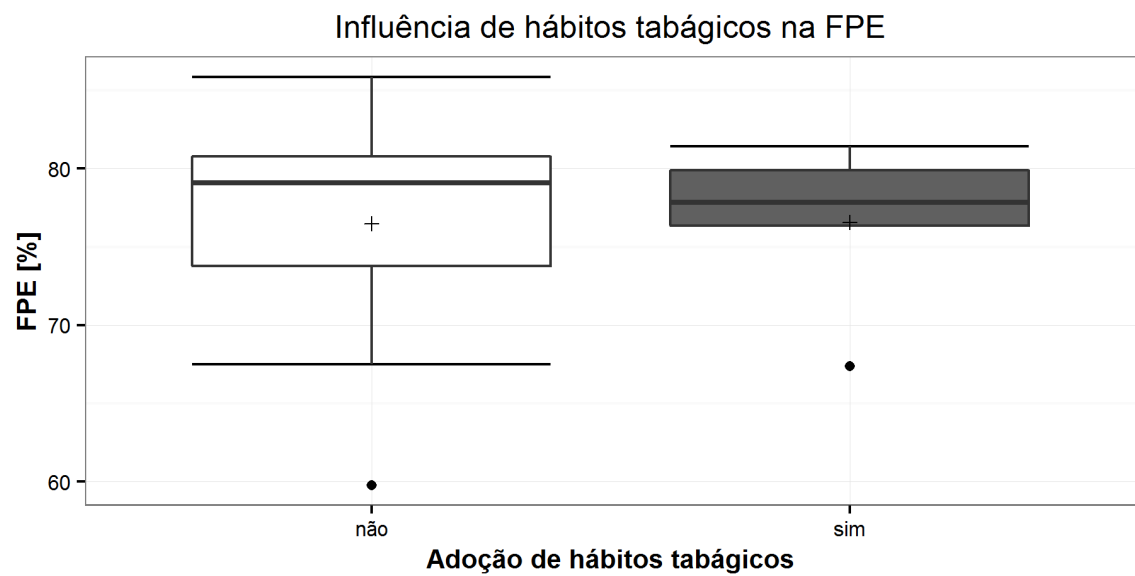


Figura C.43: Estudo da influência do tabagismo na fração do parênquima encefálico

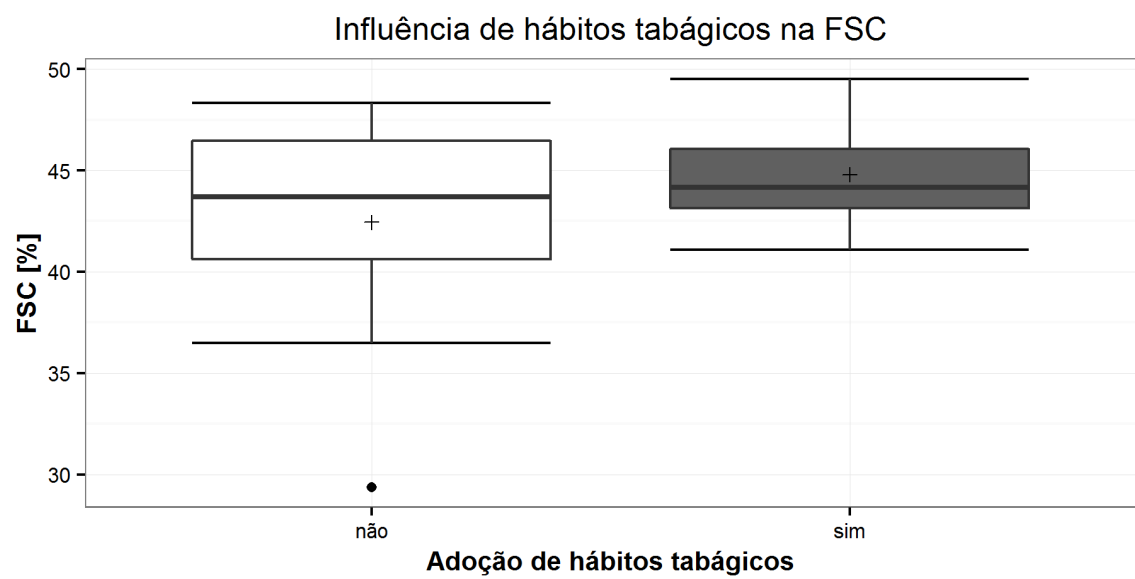


Figura C.44: Estudo da influência do tabagismo na fração de substância cinzenta

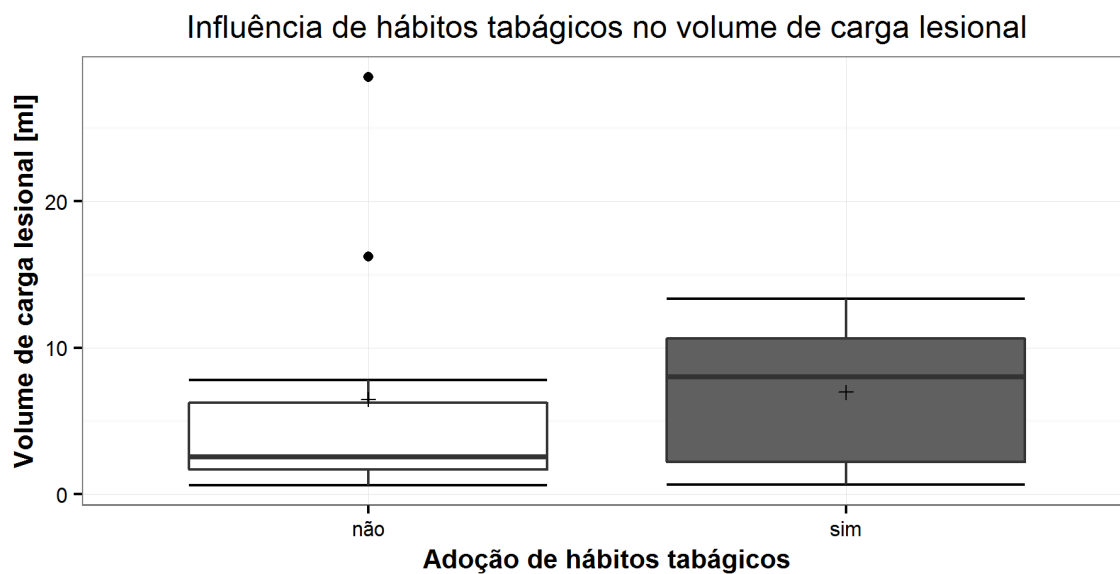


Figura C.45: Estudo da influência do tabagismo no volume de carga lesional

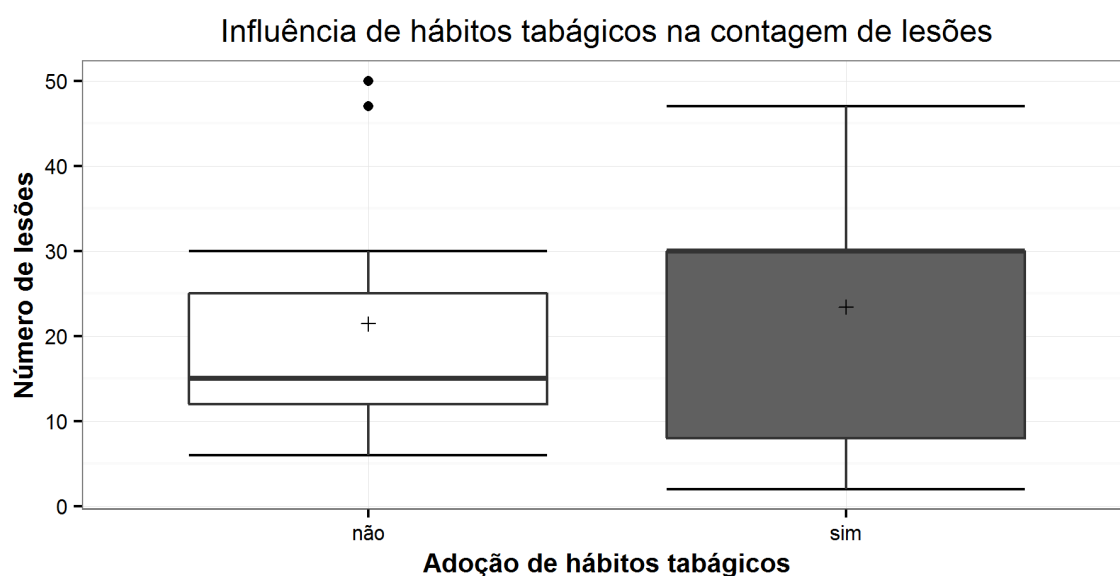


Figura C.46: Estudo da influência do tabagismo no número de lesões

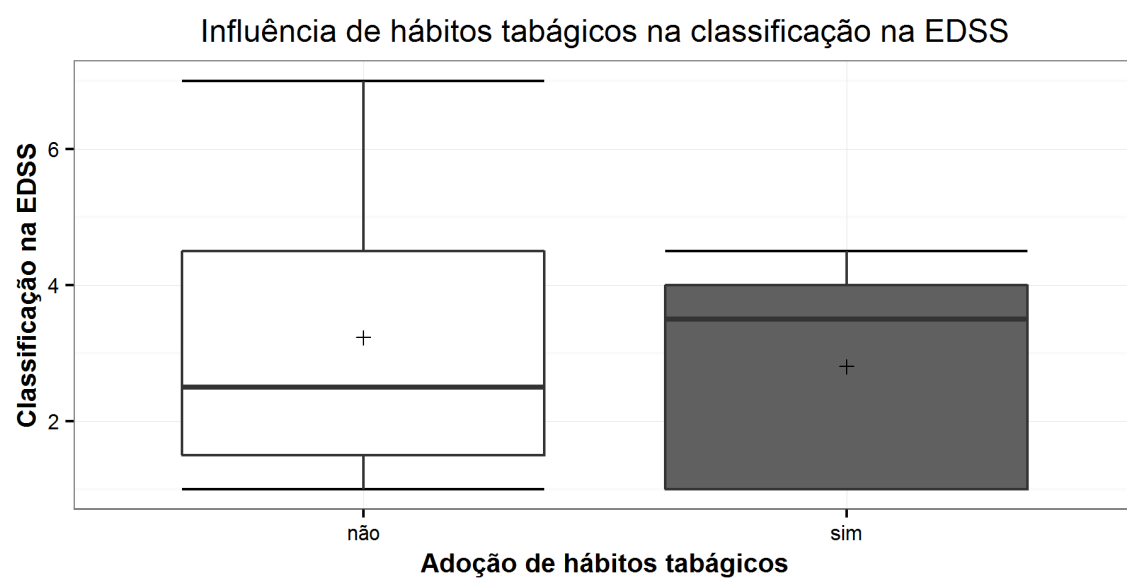





Figura C.47: Estudo da influência do tabagismo na classificação na EDSS



OUTROS APÊNDICES

 REPÚBLICA PORTUGUESA <small>SAÚDE</small>	 CES <small>COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental</small>	 CENTRO HOSPITALAR DE LISBOA OCIDENTAL, I.P.
--	---	---

PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE

Projeto de Mestrado,
Título: “Aplicação de métodos quantitativos de ressonância magnética na avaliação da carga lesional e do volume cerebral na esclerose múltipla”
Investigador Principal: Mestrando, Eng.º Rafael Ferreira Simões (Universidade Nova de Lisboa – Faculdade de Ciências e Tecnologias)
Serviço onde decorrerá o projeto: Serviço de Neurorradiologia do HEM - CHLO

Após reunião de 11 de abril de 2016 e estando atualmente o projeto de acordo com as normas de submissão impostas por esta CES, deliberou-se emitir **parecer favorável** à realização do mesmo.

A Comissão de Ética para a Saúde solicita ao Investigador Principal que, quando da conclusão deste projeto, lhe seja enviada uma síntese dos resultados e conclusões do mesmo.

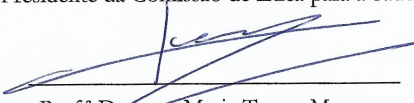
Ouvido o Relator, o processo foi votado pelos Membros da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental presentes em reunião de 11 de abril de 2016:

Presidente: Prof.ª Doutora Maria Teresa Marques

Dr. Carlos Costa, Enf.ª Clara Carvalho, Dra. Helena Farinha,
Dr. José Santana Carlos, Dra. Paula Peixe, Dr. Rui Campante Teles e Padre João Valente

Pelo exposto, emitiu-se a 13 de abril de 2016, **parecer favorável**.

Presidente da Comissão de Ética para a Saúde


Prof.ª Doutora Maria Teresa Marques

MARIA TERESA MARQUES
Presidente da Comissão
de Ética para a Saúde

Hospital de Egas Moniz
Rua da Junqueira, 126 - 1349-019 Lisboa // Telefone: 210 432 665

Figura D.1: Parecer da Comissão de Ética para a Saúde do Centro Hospitalar de Lisboa Ocidental, onde o HEM se insere.



Figura D.2: Imagem de ponderação em T1 3D relativa a um sujeito do grupo 2. É possível distinguir um granulado na imagem, resultante da influência de artefactos de ruído.

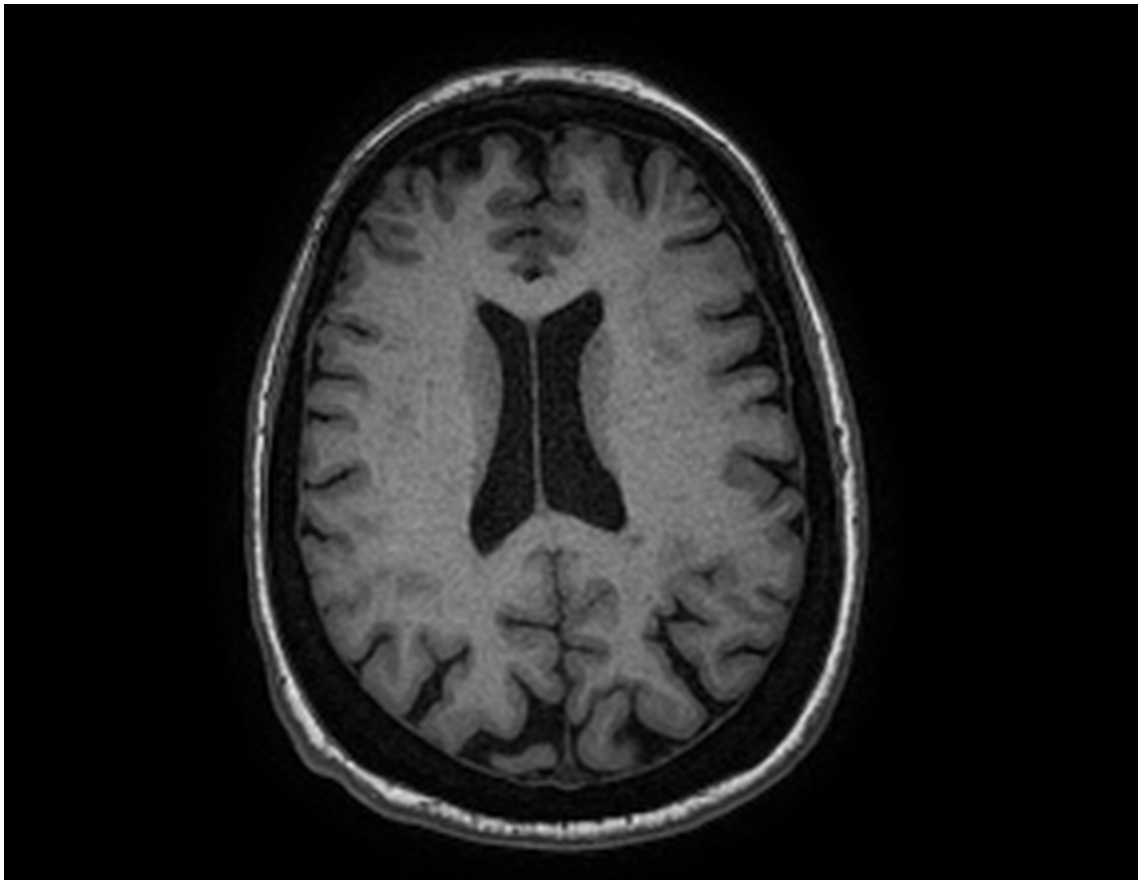


Figura D.3: Imagem de ponderação em T1 3D relativa a um sujeito do grupo 3. A imagem mostra-se claramente mais esbatida e com menos influência de ruído, algo conseguido pela diminuição da resolução espacial e consequente aumento da razão sinal-ruído.